Die blau fluoreszierenden Idioblasten der Scrophulariaceen

Morphologie, Mikrochemie und Vitalfärbbarkeit

Von Annemarie Ziegler
(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)
Mit 19 Abbildungen im Text und auf 3 Tafeln
(Vorgelegt in der Sitzung am 16. Juni 1955)

A. Einleitung.

Eine der wichtigsten Methoden der Zellphysiologie stellt heute die Fluoreszenzmikroskopie dar; ist doch die Fluorochromfärbung nicht nur die modernste, sondern zugleich auch die leistungsfähigste Form der Vitalfärbung. Ihre Entwicklung konnte aber nur Hand in Hand mit der Entwicklung des Fluoreszenzmikroskops gehen. Diese ist eng mit den Namen Carl Reichert und Max Haitinger verbunden. C. Reichert konstruierte im Jahr 1911, zwei Jahre vor Zeiß, das erste Fluoreszenzmikroskop. Haitinger, dem wir zwei wertvolle Bücher über Fluoreszenzmikroskopie verdanken (1937, 1938), arbeitete an der Vervollkommnung der Apparatur. Auf seine Anregung brachte die Firma C. Reichert im Jahre 1931 einen zweiten Typ des Fluoreszenzmikroskops heraus. Bei der modernen Reichertschen Lux-UV-Apparatur, die 1938 erstmalig auf den Markt kam, dienen Quecksilberdampfhochdrucklampen als Lichtquelle. Diese Lampen zeichnen sich durch außerordentlich hohe Leuchtdichte aus, so daß ihre Strahlung leicht auf das kleine mikroskopische Präparat konzentriert werden kann. Auch brennt der Bogen in diesen Lampen unter verhältnismäßig hohem Druck (bis 50 Atm.), so daß ein praktisch kontinuierliches Spektrum entsteht, das geeignet ist, jeden überhaupt fluoreszenzfähigen Körper zum Fluoreszieren zu bringen. Beleuchtungsoptik und Kondensor sind aus einem für das UV-Licht besonders durchlässigen Glas, dem UV-Glas, hergestellt, das nur die "weiche" kurzwellige Strahlung von 3900—3100 Å durchläßt. Darauf beruht der große Vorteil, den die Reichertsche Lux-UV-Anlage vor der modernen Zeißschen Kohlenbogenapparatur für den mit lebenden Objekten arbeitenden Zellphysiologen besitzt. Dort liefern Quarzlinsen und Quarzkondensor hartes UV-Licht unter 3000 Å. Dieses Licht ist zwar für photographische Zwecke besonders leistungsfähig, dem Physiologen aber nicht gerade erwünscht. Außerdem kann man an dem neuen, handlichen und gut durchkonstruierten Lux-UV-Mikroskop mit einem Griff von Hellfeld auf UV-Licht umschalten, was die Beobachtungsmöglichkeiten wesentlich vervollkommnet, da man sich im Hellfeld Einzelheiten einprägen und unmittelbar darauf im farbigen Bild wiedererkennen kann.

Neben der modernen Fluorochromierungstechnik verdienen aber auch die Erscheinungen der Primär- oder Eigenfluoreszenz vollstes Interesse. Vor allem muß sich der Zellphysiologe, der seine Objekte mit Fluorochromen färbt, zunächst genauestens über ihre Eigenfluoreszenz unterrichten, um grobe Irrtümer bei der Interpretation seiner Versuchsergebnisse zu vermeiden. So konnte Drawert (1952 a) auf bemerkenswerte Eigenfluoreszenzerscheinungen bei Allium cepa und ihre Veränderungen durch Eingriffe, wie Plasmolyse usw., aufmerksam machen, deren Unkenntnis und Nichtbeachtung leicht zu falschen Schlüssen führen könnten. Auch für das Studium der Gewebeschichtung ("Histosystasie") sind vergleichende Untersuchungen der Eigenfluoreszenz zu einem wichtigen Hilfsmittel geworden (Kasy 1952). Besonders aufschlußreich aber sind die Befunde für Anatomie und Mikrochemie, im besonderen für die Zytochemie. Diese untersucht einerseits die Verteilung der verschiedenen Zellstoffe in der Zelle und trachtet deren Menge zu bestimmen. In diesen Bestrebungen deckt sie sich mit der klassischen Mikrochemie von Molisch und Tunmann. Andererseits bemüht man sich in jüngster Zeit aber besonders, die Lokalisation der Enzyme im Pflanzenkörper und in der Zelle zu klären. Höfler (1954) warf bei seinem Hamburger Vortrag die Frage auf, ob nicht auch andere Idioblasten, ebenso wie die bekannten Myrosinzellen der Cruciferen, Orte der Enzymproduktion sein könnten, die im spezifischen Enzymhaushalt der Pflanze eine Rolle spielen. Er verwies darauf, daß diese Möglichkeit dem Studium der verschiedenen Idioblasten, das zunächst hauptsächlich anatomische Ergebnisse zeitigt, für die Zukunft ein gewisses physiologisches Interesse sichere.

Die Idioblasten im Grundgewebe stellen ein besonders dankbares Untersuchungsobjekt dar. So konnten mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops Idioblasten mit auffallend rot leuchtenden Inhaltskörpern bei verschiedenen Leguminosen aufgefunden und ihre systematische Verbreitung innerhalb der Familie studiert werden (Toth-Ziegler 1953). Bei einigen Scrophulariaceen finden sich zwischen Epidermis und Subepidermis gelegene Idioblasten, die im UV-Licht strahlend blau leuchten und im Falle von Scrophularia nodosa eigenartig geformte, ebenfalls blau fluoreszierende Inhaltskörper besitzen. Über das Aussehen dieser Idioblasten und Inhaltskörper, ihr Vorkommen innerhalb der Familie der Scrophulariaceen sowie ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften berichtet nachstehende Arbeit.

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe der oben beschriebenen Reichert schen Lux-UV-Apparatur durchgeführt. Als besonders vorteilhaft erwies sich dabei immer wieder die Möglichkeit, mit einem einzigen Handgriff von Hellfeld auf UV-Licht umschalten zu können.

Die Aufnahmen wurden mit der Exakta-Varex mit Mikroansatz auf Adox-KB 14-Film hergestellt. Es wurde ein Reichert-Mikroskop RC mit folgender Optik verwendet: Planokular $8\times$, Objektive: $10\times$, $30\times$, $40\times$, $60\times$, Ölimmersion HI 90. Als Beleuchtungseinrichtung diente die Reichertsche Beleuchtungsgrundplatte Lux E. Die Abbildungsmaßstäbe im Negativ sind folgende:

Objektiv 10×	32fach
$_{30} imes$	98fach
40 imes	129fach
60 imes	195fach
Immers	287fach

B. Untersuchungen an Scrophulariaceen.

I. Scrophularia.

Scrophularia nodosa.

Stengelflächenschnitte einer Scrophularia nodosa-Pflanze, die im Juli am Anninger gesammelt wurde, zeigten im UV-Licht folgendes Bild: Epidermis- und Subepidermiszellen leuchten schwach blau, die Parenchymzellen leuchten stärker, aber in einem etwas anderen Farbton. Subepidermis und vor allem Parenchym enthalten stark blutrot fluoreszierende Chlorophyllkörner. Am auffälligsten aber sind strahlend blau fluoreszierende Zellen, die über den ganzen Schnitt verstreut liegen. Bei näherem Zusehen findet man in der Mehrzahl dieser Zellen noch einen etwas stärker blau leuchtenden Inhaltskörper. Auch im Hellfeld sind Idioblasten und Inhaltskörper gut sichtbar.

Typisch für Scrophularia und einige andere Scrophulariaceen scheinen "gekammerte" Epidermiszellen zu sein. In älteren Stengelteilen sind die Epidermiszellen stets durch Querwände in zwei bis mehrere Kammern unterteilt (siehe Taf. 1, Abb. 6). Die Kammerwände verlaufen meist senkrecht zur Längsrichtung der Zellen, sie können aber auch schräg, in vereinzelten Fällen sogar uhrglasförmig ausgebildet sein. Sie sind stets zart und unverdickt, während die Hauptwände der Epidermiszellen meist dicker und mit einfachen Tüpfeln versehen sind. In jungen Pflänzchen ist von einer Kammerung der Epidermiszellen noch nichts zu sehen. Es handelt sich stets um schmale, langgestreckte Zellen, während die alten Stengelepidermiszellen bis zu 7 Kammern aufweisen, die meist höher als breit sind. Zwischen Epidermis und Parenchym schaltet sich eine Subepidermis ein. Zwischen dieser und der Epidermis liegen die obenerwähnten Idioblasten. Ihre Wände sind viel zarter als die der übrigen Zellen. Sie grenzen niemals direkt an die Oberfläche, immer liegen Epidermiszellen darüber (Abb. 1 c, d). Oft sind kleine Zwickelzellen über den Idioblasten ausgebildet, die meist stark verdickte Zellecken haben (Abb. 1 b). In vereinzelten Fällen sind die Idioblasten so groß, daß sie unter die Subepidermis reichen und direkt an das Parenchym grenzen. Meist liegen sie einzeln im Gewebe, es können aber auch 2, seltener 3-4 unmittelbar nebeneinander liegen. Manchmal liegen sie in Reihen zwischen den Schließzellenreihen, dies stellt aber keine Gesetzmäßigkeit dar. Jedenfalls zeigen sie keinerlei Beziehung zu den Schließzellen, wie etwa die Idioblasten der Leguminosen (Toth-Ziegler 1953). Die Größe der Idioblasten schwankt in weiten Grenzen.

Das Auffallendste an den Idioblasten aber, im Hellfeld noch viel mehr als im UV-Licht, sind ihre Inhaltskörper. In fast jedem Idioblasten befindet sich in der Vakuole ein farbloses Gebilde, das meist aus mehreren Strängen zusammengefügt ist und am ehesten noch mit den Röhren von Vermetus oder mit Wurmtraganth zu vergleichen wäre (Abb. 2 n--s). Meist sind die einzelnen Stränge, die den Inhaltskörper bilden, gleich dick, es gibt aber auch Zellen, in denen neben dicken auch fadendünne Stränge am Aufbau der Körper beteiligt sind. In vereinzelten Fällen ist der Körper nicht scharf begrenzt, sondern sieht wie ein "geformter Niederschlag" aus (Abb. 2h); auch dünne Fäden, die dann als Knäuel die ganze Zelle erfüllen, kommen vor (Abb. 2 m). Oft liegen auch Ringe und Schleifen in den Idioblasten, die den Virus-Eiweißkörpern von Rhipsalis (Weber und Kenda 1952, Abb. 2) recht ähnlich sehen. Auch die Struktur der einzelnen am Aufbau der Körper beteiligten Fasern ist diesen oft ähnlich. Abb. 3 zeigt den spiraligen Aufbau der Fasern, der auch im Photo (Taf. 1, Abb. 4) gut zum Ausdruck kommt. Auch geflochtene, zopfartige Gebilde kommen mitunter vor (Abb. 3 c), wie sie für *Rhipsalis* von W e b e r und K e n d a (1952, Abb. 5) beschrieben wurden. Die Enden der Einzelstränge sind meist ganzrandig, manchmal aber auch fingerförmig gelappt.

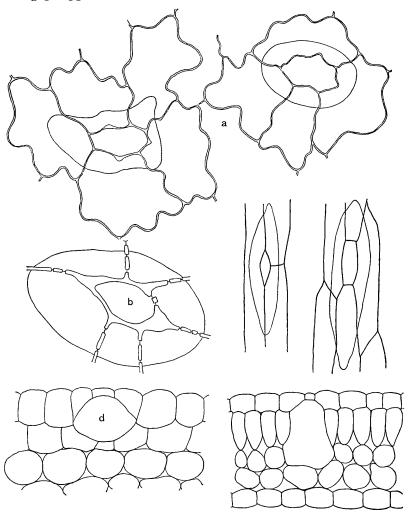


Abb. 1. Scrophularia nodosa. Idioblasten aus Blatt (a, e) und Stengel (b-d).

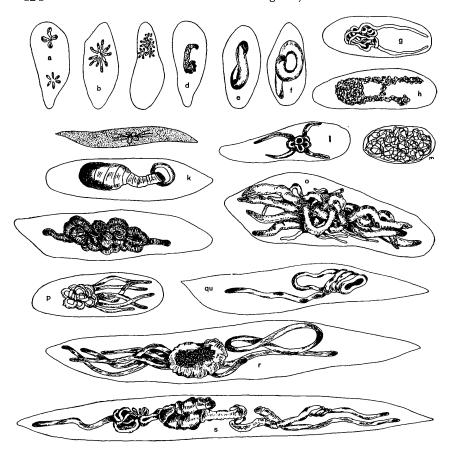


Abb. 2. Scrophularia nodosa. Stengel-Idioblasten mit Inhaltskörpern. a—f Entwicklungsstadien der Inhaltskörper; g—s verschieden geformte Inhaltskörper.

Zwischen Zellgröße und Größe der Inhaltskörper bestehen keinerlei Beziehungen. Riesenzellen sind manchmal ganz erfüllt vom Inhaltskörper, in anderen Fällen ist der Körper im Vergleich zur Zelle nur sehr klein. Auch das Verhältnis von Idioblasten mit zu solchen ohne Inhaltskörper wechselt, ohne daß bis jetzt eine gesetzmäßige Abhängigkeit dafür gefunden werden konnte. Oft hat eine Pflanze sehr wenig Idioblasten, aber in jedem einen Inhaltskörper, dann wieder gibt es zwar reichlich Idioblasten, aber nur in vereinzelten finden sich Inhaltskörper, schließlich kann sich

aber auch bei reichlichem Vorkommen der Idioblasten in jedem ein Inhaltskörper finden. Neben den Inhaltskörpern ist der Zellkern in den Idioblasten oft deutlich sichtbar. Im Plasmawandbelag der Epidermis- und Subepidermiszellen sowie der Idioblasten findet schöne Plasmaströmung statt.

Nicht alle Stengelpartien sind gleich reich an Idioblasten. Man muß von einem Stengel oft mehrere Schnitte herstellen, um einen mit wirklich schönen Inhaltskörpern zu erhalten. Besonders viele Idioblasten gibt es in der Umgebung der Nodien, allerdings sind sie hier sehr klein.

Außer den Idioblasten mit Inhaltskörpern gibt es bei $Scrophularia\ nodosa$ noch die bereits von Vogl (1896) ausführlich be-

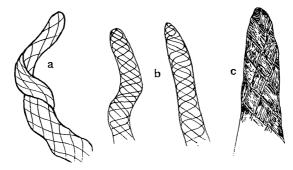


Abb. 3. Scrophularia nodosa. Aufbau der Einzelstränge. a, b spiralige Streifung; c zopfartig geflochtene Faser.

schriebenen Hesperidin-Sphärokristalle, die orangebraun fluoreszieren. Ihr Inneres leuchtet mattbraun, während die äußere Hülle (es dürfte die Niederschlagsmembran sein, innerhalb derer sich die Sphärite bilden) lebhaft und heller orangebraun fluoresziert. Sphärokristalle liegen in jeder abgestorbenen Epidermiszelle, aber auch in vielen lebenden Epidermis- und Subepidermiszellen finden sie sich. In der Regel liegt in einer Zelle nur ein Sphärit. Auch in den Schließzellen gibt es Sphärite, doch stets nur in einer von den beiden die Spaltöffnung bildenden Zellen, wobei sich folgendes nette Bild ergab: durchziehen mehrere Spaltöffnungsreihen das Blickfeld von oben nach unten, so findet sich stets z. B. in der rechten Schließzelle der Sphärokristall, während die links gelegene Zelle keinen besitzt. Es dürfte sich dabei um die Mutterzelle der beiden Schließzellen handeln, in der der Sphärit zur Zeit ihrer Teilung in die beiden Schließzellen bereits ausgebildet war. Auch in den Deckzellen der Idioblasten finden sich manchmal Sphärite,

niemals aber finden sie sich in den Idioblasten selbst. Über den ganzen Schnitt verstreut liegen außerdem kleine hantelförmige Stäbchen und kleine Kristallnadelbüschel, die ebenfalls rotbraunbraunorange fluoreszieren und Hesperidin darstellen. Auch sie wurden bereits von V og l beschrieben. Merkwürdig ist, daß V og l, der zahlreiche Scrophularien auf das Vorhandensein von Sphäriten untersuchte, die Idioblasten mit den auffallenden Inhaltskörpern in seiner Arbeit nicht erwähnt. V og l fand, daß der Hesperidingehalt und damit die Menge der Sphärokristalle bei den einzelnen Pflanzen sehr stark wechseln kann; auch meine Untersuchungen an zahlreichen Pflanzen brachten das gleiche Ergebnis.

In älteren Stengelteilen und vergilbten Stengeln findet sich in jeder Epidermiszelle ein Tropfen, der meist schwach bläulich fluoresziert (Taf. 1, Abb. 6). Oft sind es aber auch Gebilde, die aussehen wie die von Mirande (1923) beschriebenen Sterinoplasten in den Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von Lilium candidum, denen aber Reilhes (1933) die Plastidennatur absprach und feststellte, daß es sich um Lecithinausscheidungen der Vakuole handelt, die von einer Eiweißhülle umgeben sind. In nekrotischen Zellen liegen nur mehr Gebilde, die wie verknitterte "Häute" der Kugeln aussehen; in toten Zellen findet sich nichts mehr. Auch diese Kugeln kommen, ebenso wie die Sphärite, niemals in den Idioblasten vor. Kugeln und Sphärite scheinen sich auszuschließen. In Schnitten mit Kugeln konnte ich bisher niemals Sphärokristalle finden, umgekehrt fanden sich in Schnitten mit Sphäriten niemals gleichzeitig Kugeln. Bei diesen Kugeln dürfte es sich um die von Lidforss (1898) für Scrophularia nodosa beschriebenen Inhaltskörper handeln. In seiner Arbeit "Über eigenartige Inhaltskörper bei Potamogeton praelongus Wulf." beschreibt Lidforss Tropfen, die in den Zellen der Potamogeton-Blätter liegen. Er hält sie auf Grund der Ergebnisse seiner chemischen Untersuchungen für aromatische Aldehyde. Am Schluß der Arbeit findet sich eine kurze Notiz: "Inhaltskörper, die in wichtigen Punkten mit den jetzt geschilderten übereinstimmen, habe ich schon vor Jahren bei Scrophularia nodosa und einigen anderen Scrophulariaceen gefunden." Aber auch Lidforss schreibt nichts über die Idioblasten mit den eigenartigen Inhaltskörpern.

Außer den Pflanzen vom Anninger wurden noch zahlreiche Pflanzen verschiedener Standorte auf das Vorkommen dieser eigenartig geformten Inhaltskörper untersucht. Sie fanden sich, allerdings in wechselnder Menge, bei allen untersuchten Exemplaren von Scrophularia nodosa. Auffallend war, daß die im Mai eingesammelten Pflanzen durchwegs viel weniger und vor allem viel

A. Ziegler: Die blau fluoreszierenden Idioblasten der Scrophulariaceen. Tafel 1.

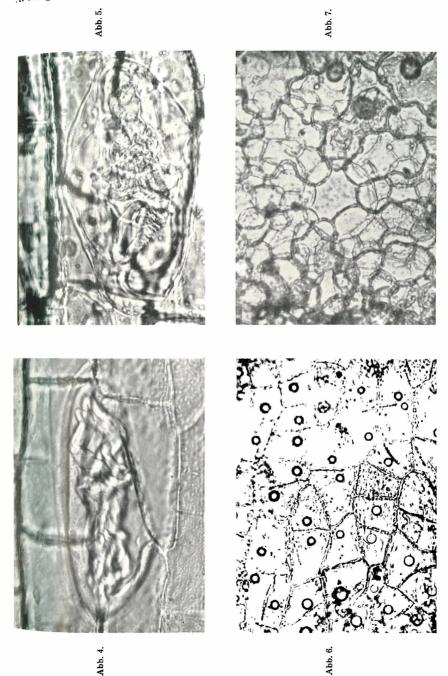


Abb. 4 und Abb. 5. Scrophularia nodosa. Stengel-Idioblasten mit Inhaltskörper. Die spiralige Streifung der Fasern ist deutlich zu sehen. Abbildungsmaßstab im Negativ: 287fach. Nachträglich vergrößert auf: 660fach. — Abb. 6. Scrophularia nodosa. Epidermis eines alten Stengelstückes. In jeder lebenden Zelle liegt ein Tropfen, die Kammerung der Epidermiszellen ist gut zu sehen. Abbildungsmaßstab im Negativ: 98fach. Nachträglich vergrößert auf 24sfach. — Abb. 7. Scrophularia nodosa. dioblast von der Blattoberseite. Rechts 3. Epidermiszellen die je einen großen Hesperidin-Sphärit beherbergen. Abbildungsmaßstab 98fach. Nachträglich vergrößert auf 290fach.

©Akademie d. Wissenschaften Wien: download unter www.biologiezentrum.at

Fundort	Mai	Juni	Juli	Sep- tember	Oktober	Novem- ber Anfang	Novem- ber Ende
Anninger		viele Id. viele Ik.	viele Id. viele Ik.				
Neuwaldegg	viele Id. wenig Ik.			viele Id. viele Ik.	viele Ik.	viele Ik.	wenig Ik.
Schottenhof		viele Id. viele Ik.	viele Id. viele Ik.				
Kritzen- dorfer Au	wenig Ik.						
Klosterneu- burg-Weid- ling				viele Ik.			wenigIk.
Gugging	viele Id. wenig Ik.						
Dürrwien	viele Id. wenig Ik.	viele Id. viele Ik.	viele Id. viele Ik.				
Mannersdorf		viele Ik.					
Schladming			viele Id. viele Ik.				
St. Radegund bei Graz			viele Id. wenig Ik.				

kleinere Inhaltskörper hatten als die Pflanzen, die zum Teil vom gleichen Standort während der Monate Juni bis Ende Oktober—Anfang November eingebracht wurden. Pflanzen, die im November nach den ersten stärkeren Nachtfrösten gesammelt wurden, zeigten viel weniger und vor allem irgendwie aufgelöst erscheinende Inhaltskörper als die Pflanzen, die zwar am gleichen Standort, aber vor dem Auftreten der Fröste gesammelt worden waren. Die vor stehende Tabelle, in der Standort und Sammelzeit für die untersuchten Pflanzen angegeben sind, soll einen Überblick darüber bringen.

Es scheint, daß zunächst nur Idioblasten vorhanden sind, in denen erst später die Inhaltskörper ausfallen. Bei den Pflanzen von St. Radegund (es standen mir allerdings nur zwei Stück zur Verfügung) konnte ich keine schön ausgebildeten Inhaltskörper finden. Es waren zwar Körper vorhanden, doch bildeten sie nur einen ungegliederten Klumpen im Idioblasten. Die Pflanzen aus dem Wiener Botanischen Garten wichen schon in Gestalt und Größe ziemlich von den Freilandpflanzen ab. Sie hatten im Stengel in den seltensten Fällen und dann nur ganz vereinzelt Idioblasten mit dünnen fädigen Inhaltskörpern. Die kleinen Hesperidinnadeln, die über den Schnitt verstreut liegen, kamen bei diesen Pflanzen in besonders großer Zahl vor.

An Stengelquerschnitten fanden sich im Bastteil des geschlossenen Holz-Bast-Ringes auch vereinzelte, stark blau fluoreszierende Zellen, in denen aber niemals Inhaltskörper gefunden wurden.

Alles bisher Gesagte bezog sich auf die Idioblasten in den Stengeln von Scrophularia nodosa; aber auch Blattstiele und Blattrippen haben Idioblasten mit Inhaltskörpern. Diese sind hier meist sehr klein und aus dünnen Fäden zusammengesetzt. Manchmal sind die Idioblasten auch von einem grobkörnigen Niederschlag erfüllt, in dem zarte Fäden einen kleinen Inhaltskörper bilden (Abb. 2i).

Im Blatt fluoreszieren nur die Chlorophyllkörner rot und die Basalringe der Haare blau. Epidermis und Parenchym zeigen keinerlei Aufleuchten im UV-Licht. Auch hier gibt es stark blau fluoreszierende Idioblasten, die unter der Epidermis liegen (Abb. 1a, e und Taf. 1, Abb. 7). Sie finden sich vornehmlich auf der Blattoberseite, auf der Unterseite kommen sie nur ganz selten vor. In den Idioblasten der Blätter fanden sich aber bisher niemals Inhaltskörper. Im Hellfeld sind die Idioblasten des Blattes sehr gut zu sehen, da unter ihnen keine Palisadenzellen liegen und sie daher als helle Flecken aus dem grünen Blattflächenschnitt herausleuchten. Auch hier gibt

es in den Epidermiszellen schöne Hesperidinsphärite, während in den Idioblasten keine gefunden wurden.

Auch im Kelch \bar{b} latt gibt es blau fluoreszierende subepidermal gelegene Idioblasten, die niemals irgendwelche Inhaltskörper besitzen. Im Blüten blatt fanden sie sich niemals.

Epidermis- und Subepidermiszellen des Rhizoms leuchten im UV-Licht blau auf. Ihre Membranen fluoreszieren messinggelb bis gelbgrün. In den Zellen liegen Kugeln, die ebenfalls blau fluoreszieren und im Hellfeld stark lichtbrechend erscheinen. Idioblasten fanden sich niemals. Auch in der Wurzel, deren Epidermiszellen blau fluoreszieren, fanden sich keine.

Epidermis- und Subepidermiszellen der Frucht leuchten ebenfalls blau. In den Epidermiszellen finden sich zahlreiche große Sphärite, die schön goldorangebraun leuchten (Abb. 8 a). In den Zellen der Subepidermis gibt es keine Sphärite, hier liegen blau fluoreszierende Kugeln oder Körper, die den Lilium-Sterinoplasten ähnlich sind (Abb. 8 b). In einzelnen Zellen aber liegen auch Gebilde, die zart blau fluoreszieren und stark an die Stengelidioblasten-Inhaltskörper erinnern (Abb. 8 c).

Idioblasten und Inhaltskörper scheinen ziemlich stabil zu sein. In Herbarexemplaren, die bereits 50 Jahre alt sind, finden sich noch immer Idioblasten, die zum Teil sogar noch bläulich fluoreszieren mit ihren Inhaltskörpern. Man kann an ihnen Färbe- und mikrochemische Reaktionen ausführen wie am frischen Material. Davon soll in einem späteren Abschnitt die Rede sein.

Um die Entwicklung der Idioblasten und ihrer Inhaltskörper verfolgen zu können, wurden Pflänzchen aus Samen besonders idioblasten- und inhaltskörperreicher Pflanzen aus Neuwaldegg gezogen. Die Samen wurden am 7. Oktober 1953 angebaut. Gleichzeitig wurden auch Rhizomstücke dieser Pflanzen mit Knospen eingesetzt und die daraus heranwachsenden Pflänzchen laufend untersucht.

28. Oktober 1953.

Die Hypokotyle der Keimpflänzchen sind 6—10 mm lang. Die kleineren zeigen im UV-Licht noch keine Spur von Idioblasten. Die größeren haben kleine, schon mattblau fluoreszierende Idioblasten, in denen aber noch keine Spur von Inhaltskörpern zu sehen ist. In Epidermiszellen und Idioblasten findet Rotationsströmung des Protoplasmas statt. Die Idioblasten sind im Vergleich zu den Epidermiszellen winzig klein, die Epidermiszellen sind ungefähr 10- bis 15mal so lang, aber ihre Zellkerne sind gleich groß.

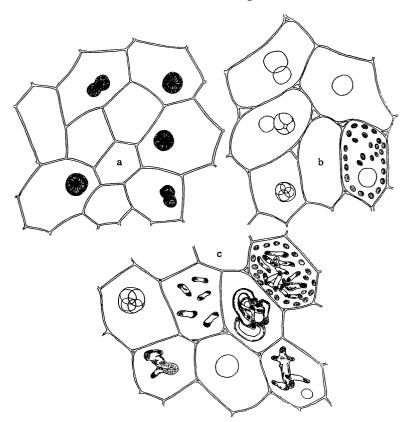


Abb. 8. Scrophularia nodosa. Epidermis (a) und Subepidermis (b, c) der Frucht. In der Epidermis liegen Hesperidin-Spärite, in der Subepidermis blau fluoreszierende Kugeln und Inhaltskörper.

24. November 1953.

Die kleinen Pflänzchen zeigen die ersten Blätter. Das Epikotyl ist 3—4 mm lang und besitzt zahlreiche kleine, blau fluoreszierende Idioblasten. Sie leuchten zwar noch nicht so stark wie die Idioblasten erwachsener Pflanzen, aber doch wesentlich stärker als die im Hypokotyl. Auch die kleinen Haare leuchten zart blau, ihr Stiel wesentlich kräftiger.

7. Dezember 1953.

Die Pflänzchen haben 2 Blattpaare. Zahlreiche Idioblasten sind vorhanden, doch ist von Inhaltskörpern noch nichts zu sehen.

8 Jänner 1954.

Die Pflänzchen haben 4 Blattpaare. In allen Stengelabschnitten finden sich Idioblasten, nirgends treten aber Inhaltskörper auf.

Aus dem gleichzeitig mit den Samen in die Erde gebrachten Rhizomstück ist ein Pflänzchen erwachsen, das jetzt ungefähr 10 cm hoch ist und 4 Blattpaare besitzt. Im Stengel finden sich zahlreiche Idioblasten, teils mit, teils ohne Inhaltskörper. Die meisten Inhaltskörper finden sich im untersten Stengelabschnitt unter dem 1. Blattpaar. In der Mehrzahl der Idioblasten gibt es allerdings noch keine Inhaltskörper. Die Körper sind meist noch sehr klein, in den Anfangsstadien sehen sie aus wie kleine Sternchen (Abb. 1 a—c), dann treten kleine Klümpchen, Schleifen und Ringe auf, bis in älteren Stadien die Inhaltskörper das gewohnte Bild bieten und mannigfache Formen aufweisen können. Über den Schnitt verstreut liegen hier wieder zahlreiche kleine hantelförmige Hesperidin-Stäbchen und -Kristallnädelchen.

Die allerersten Anfänge der Inhaltskörper ähneln den von Scharinger (1936) für die Blütenblätter von Delphinium cultorum beschriebenen Zelleinschlüssen (siehe auch Bancher 1951). Allerdings sind diese meist kugelig und nur selten zäpfchenoder schlauchförmig, ähnlich den Myelinfiguren, und erreichen niemals größere Dimensionen, wie dies bei den Inhaltskörpern von Scrophularia nodosa der Fall ist. Auch in chemischer Hinsicht verhalten sie sich ähnlich. Sie färben sich stark mit Neutralrot an. lösen sich leicht in Alkohol, Äther, Azeton, Formol, KOH und Essigsäure. Jodjodkali ruft intensive Braunfärbung hervor. Auch mit Janusgrün färben sie sich an. Scharinger beschreibt weiters das Auftreten von nadelförmigen Kristallen, die in kleinen Büscheln, aber auch regelmäßig um ein Zentrum, angeordnet erscheinen und dann im polarisierten Licht das schwarze Kreuz zeigen. Im gewöhnlichen Licht sind sie nicht sichtbar. Sie sind leicht löslich in H2SO4, KOH, HCl und Essigsäure, unlöslich in Alkohol und Azeton. Scharinger stellte an den Inhaltskörpern eine Haut fest, ähnlich der von Reilhes an Mirandes Sterinoplasten beschriebenen Eiweißhülle, die dort die Lecithinausscheidungen der Vakuole umgibt. Ähnlich sind auch die Inhaltskörper von *Iris germanica* (Molliard 1934). Molliard schließt, daß diese durch Kondensation einer kolloidalen Substanz entstehen, die sich im Zustand der Pseudolösung im Vakuolensaft befindet. Scharinger schließt aus seinen Versuchsergebnissen, daß es sich bei den Inhaltskörpern von Delphinium cultorum um eine wenig bekannte, chemisch noch nicht eindeutig definierbare Substanz von vermutlich lipoider Natur handelt.

An den Stengelschnitten der aus dem alten Rhizom erwachsenen Pflanze waren oft Spaltöffnungsanomalien zu beobachten. Es fanden sich Zwillings- und Drillingsbildungen, in einem Fall sogar eine Fünflingsbildung, bei der aber von einer Spaltöffnung nur die eine Schließzelle zur Ausbildung gelangt war (Abb. 9). Es sind analoge Bildungen, wie sie Kropfitsch (1951) für Vicia Faba-Keimlinge, die in Apfelluft aufgewachsen waren, beschrieb.

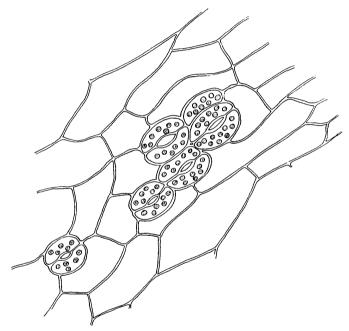


Abb. 9. Scrophularia nodosa. Schließzellenanomalien im Stengel einer jungen, aus dem Rhizom erwachsenen Pflanze.

9. Februar 1954.

Die Pflänzchen haben 5 Blattpaare. In allen Stengelabschnitten gibt es blau fluoreszierende Idioblasten, die im jüngsten Stengelabschnitt am kleinsten sind und hier auch noch nicht sonderlich stark fluoreszieren. Inhaltskörper wurden nirgends gefunden.

4. März 1954.

Die Pflänzchen haben 6 Blattpaare, außerdem haben sie aus ihren Rhizomen neue Pflanzen ausgetrieben, die kräftiger als ihre

Mutterpflanzen sind und jetzt 2 Blattpaare besitzen. Auch sie haben Idioblasten, aber nirgends gibt es Inhaltskörper.

9. April 1954.

Die aus dem Rhizom der angebauten Pflanzen erwachsenen Pflänzchen sind sehr kräftig. Sie haben im Stengel viele Idioblasten verschiedener Größe. In vereinzelten Idioblasten fanden sich hier bereits Inhaltskörper.

23. April 1954.

Die aus den Rhizomen erwachsenen Pflänzchen besitzen jetzt 7 Blattpaare, sind sehr kräftig und ungefähr 10—14 cm hoch. In vielen Idioblasten befinden sich schöne Inhaltskörper. Auch in den aus Samen gezogenen Pflänzchen selbst gibt es jetzt, allerdings nur vereinzelt, kleine Inhaltskörper in den Idioblasten. Die Pflänzchen sind aber wesentlich schwächer, als die aus ihren Rhizomen erwachsenen.

Bei der aus dem alten Rhizomstück erwachsenen Pflanze besitzen nun fast alle Idioblasten herrliche Inhaltskörper. Auch in den Blattstielen gibt es Idioblasten mit Inhaltskörpern, allerdings nicht so häufig wie im Stengel. Die einzelnen Arme und Fasern, aus denen sich die Körper zusammensetzen, erscheinen sehr oft tordiert und an ihren Enden nicht ganzrandig, sondern fingerförmig gelappt. Schnitte, die von der Stengelbasis stammen, zeigen eigenartige, den X-bodies der Cactaceen (Weber und Kenda 1952) ähnliche Gebilde in den Zellen der Subepidermis.

Weder bei den aus Samen gezogenen Pflänzchen noch bei den aus dem Rhizom erwachsenen gibt es Hesperidinsphärite.

Die Versuche zeigen, daß sich zunächst, und zwar schon im Hypokotyl, die Idioblasten bilden, die zu diesem Zeitpunkt allerdings noch sehr schwach fluoreszieren, also scheinbar noch sehr wenig Inhaltsstoffe besitzen. Erst im Laufe der Entwicklung verstärkt sich die Fluoreszenz, und schließlich finden sich auch die ersten kleinen Inhaltskörper in den Idioblasten. Am ehesten traten die Inhaltskörper bei den Pflanzen, die aus dem alten Rhizom erwachsen waren, auf. Bei den aus Samen gezogenen Pflänzchen hatten die aus ihren Rhizomen erwachsenen Pflanzen die Inhaltskörper bereits zu einem früheren Zeitpunkt als die Mutterpflanzen.

Scrophularia alata.

Stengelflächenschnitte von Scrophularia alata zeigen im UV-Licht grünblau fluoreszierende Epidermis-, mattblaue Subepidermis- und ebensolche Parenchymzellen, die rotfluoreszierende

Chlorophyllkörner enthalten. Über den Schnitt verstreut liegen strahlend blau fluoreszierende Idioblasten verschiedener Größe. Sie leuchten meist etwas kräftiger als die von Scrophularia nodosa. Besonders auffallend ist aber ihre Form. Während die Idioblasten bei Scrophularia nodosa sich an den Enden ungleichmäßig verjüngen, manchmal sogar zu einer Spitze ausgezogen sind, erscheinen die von Scrophularia alata immer von idealen Halbkugeln begrenzt. Ein Blick ins Hellfeld zeigt aber, daß diese Halbkugeln nicht die Zellgrenzen, sondern die Tonoplaste dieser Idioblasten darstellen. Die Idioblasten von Scrophularia alata zeigen immer "Vakuolenkontraktion", wobei nur die Vakuole stark blau leuchtet, die Plasmazwickel aber im UV-Licht dunkel erscheinen (Taf. 2, Abb. 10, 11). Der Ausdruck Vakuolenkontraktion ist hier vielleicht nicht ganz am Platze, da an Schnitten von erwachsenen Pflanzen sich die Zellen stets in diesem Zustand befinden (Keimpflänzchen standen mir leider keine zur Verfügung) und man von Vakuolenkontraktion doch erst sprechen kann, wenn sich in normalen Gewebszellen durch Einwirkung verschiedener Außeneinflüsse, wie Wundreizwirkung (Henner 1934), Vitalfärbung mit Neutralrot (Weber 1930) oder kombinierter Wirkung von Wundreiz und Färbung (Küster 1926) usw., die Vakuole verkleinert und das Protoplasma dabei zusehends aufquillt. Allerdings kann auch reines Wasser, das als hypotonisches Medium das Plasma zum Quellen bringt, Spontankontraktion bewirken; es könnten sich also die Vakuolen der Idioblasten erst nach dem Einlegen in Wasser spontan verkleinert haben. Untersuchungen an toten, vertrockneten Pflanzen zeigen aber, daß dies nicht der Fall ist und die Vakuolen schon in der unbehandelten Pflanze kontrahiert sind. Die Idioblasten dieser abgestorbenen Pflanzen zeigen noch deutlich die verkleinerte Vakuole, während der Plasmaraum von Strängen koagulierten Plasmas durchzogen ist. Daraus geht aber gleichzeitig hervor, daß der Vakuoleninhalt der Idioblasten eine ziemlich hohe Viskosität besitzen muß.

Die Idioblasten zeigen das gleiche Bild, wie es für Zellen mit Vakuolenkontraktion bekannt ist. Strugger (1936) zeigte, daß der Tonoplast bei Vakuolenkontraktion in Neutralrot sichtbar wird und das Cytoplasma sich an die Zellecken lagert, wobei die Plasmaströmung erhalten bleibt. Wird die Vakuolenkontraktion wieder rückgängig gemacht, ist auch ein sichtbarer Tonoplast nicht mehr zu beobachten. Auch nach Höfler (1939) treten sowohl bei Vakuolenkontraktion als auch bei Kappenplasmolyse die Tonoplaste viel stärker hervor. Sie gewinnen an Schichtdicke und ihre Spannung, die zur kapillaren Konvexrundung führt, nimmt zu.

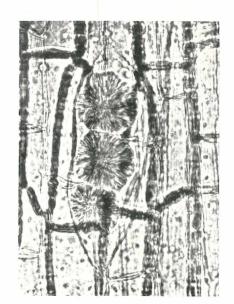
A. Ziegler: Die blau fluoreszierenden Idioblasten der Scrophulariaceen. Abb. 15.



Abb. 11.







großen Hesperidin-Sphärile der Bpidermiszellen. Abbildungsmaßstab: 195fach. Nachträglich vergrößert auf 468fach. Abb. 11. Wie Abb. 16. Linkes Zellende stärker vergrößert. Abbildungsmaßstab: 287fach. Nachträglich vergrößert auf 574fach. Abb 14. Scrophularia nodosa. Idioblast mit Kristallnadelkugeln in 96%igem Äthylalkohol. Abbildungsmaßstab: 287fach. Nachträglich vergrößert auf 688fach. Abb. 15. Scrophularia nodosa. Idioblast mit Kristallnadelkugeln in 96%igem Äthylalkohol. Abbildungsmaßstab: 195fach. Nachträglich Abb. 10. Scrophularia alata. Stengel-Idioblast. Die Zelle zeigt deutliche Vakuolenkontraktion. Die dunklen unscharfen Gebilde sind die

©Akademie d. Wissenschaften Wien: download unter www.biologiezentrum.at

Höfler vermutet, daß das Aufquellen des Cytoplasmas die primäre Veränderung ist und daß im Zusammenhang damit die Ausscheidung einer lipoidreichen Phase an der Vakuolenoberfläche und eine Verstärkung der flüssigen Tonoplastenmembran erfolgt. Auch im vorliegenden Fall sind die Tonoplaste besonders deutlich sichtbar. Sie sind im Schnitt wesentlich deutlicher zu sehen als die Zellmembranen der Idioblasten. Auch Plasmaströmung ist in den Idioblasten zu sehen. In vielen Fällen strömt das Plasma entlang der Zellwände und dem Tonoplast, während das Plasma in den Zwickeln nur lebhafte BMB zeigt. Oft aber gibt es auch in den Plasmazwickeln eigene Zirkulationsströmchen, während die übrigen Plasmapartien in Ruhe liegen. Auch in den Epidermis- und Subepidermiszellen findet lebhafte Plasmaströmung statt. Auffallend dabei ist, daß in den kleinen Deckzellen der Idioblasten der Strom stets gegenläufig dem Plasmastrom in den Idioblasten selbst gerichtet ist. Es wurden zahlreiche Pflanzen von verschiedenen Standorten zu verschiedenen Jahreszeiten untersucht, immer wieder aber hatten sämtliche Idioblasten das gleiche Aussehen. Selbst ganz kleine, fast kugelrunde Zellen zeigten Vakuolenkontraktion. Die Vakuolen scheinen von einer weißen, manchmal auch leicht gelblichen glänzenden Masse erfüllt und leuchten oft förmlich aus dem Schnitt heraus. In anderen Fällen sind sie weniger gut zu sehen, was wohl mit der wechselnden Konzentration des in der Vakuole vorkommenden Stoffes zusammenhängen dürfte. Ähnliches fanden Härtel, Kenda und Weber (1950) an den Plasmal-Idioblasten von Verbascum Blattaria. Darauf soll aber in einem späteren Abschnitt noch näher eingegangen werden.

Die Idioblasten liegen über den ganzen Stengel verteilt, auch in den "Flügeln" finden sie sich. In keinem Fall wurden Inhaltskörper gleich denen von Scrophularia nodosa gefunden, hingegen kommen die Hesperidin-Sphärite hier wieder in großer Zahl vor. Auch hier findet sich bei den Spaltöffnungen fast ausnahmslos nur in einer der beiden Schließzellen ein Sphärit, wie dies bereits für Scrophularia nodosa beschrieben wurde. In alten Stengelstücken treten wieder die zart weißblau fluoreszierenden Tropfen auf; auch hier gleichen sie oft gestaltlich den Lilium-Sterinoplasten. Tropfen und Sphärokristalle kommen niemals gemeinsam vor, die Idioblasten sind stets frei von beiden.

Bei einer aus dem Leithagebirge stammenden Pflanze, deren Epidermiszellsäfte nicht blau fluoreszierten, gab es in jeder Epidermiszelle eine Anhäufung kleiner bläulich fluoreszierender Tropfen, die sich in lebhafter BMB befanden und langsam in der Zelle umherschwammen. Anscheinend war hier der Stoff, der sonst

die Blaufluoreszenz des Zellsaftes verursacht, in diesem in Form kleiner Kügelchen ausgefallen.

In Blattstielen und Blattrippen gibt es auch Idioblasten. Auch sie zeigen Vakuolenkontraktion. Hingegen gleichen die Idioblasten der Blätter vollkommen denen von Scrophularia nodosa; sie zeigen niemals Vakuolenkontraktion und finden sich gehäuft unter der Epidermis der Blattoberseite, während unterseits kaum Idioblasten zu finden sind. In den Zellen der Blattepidermis gibt es besonders viele Hesperidin-Sphärite, die rotorangebraun fluoreszieren und von einem heller leuchtenden Saum umgeben sind.

In der Frucht und im Fruchtstiel liegen unter der Epidermis kleine rundliche grellblau fluoreszierende Idioblasten. In all diesen Idioblasten wurden niemals Inhaltskörper gefunden.

Scrophularia vernalis.

Stengelflächenschnitte bieten im UV-Licht folgendes Bild: Epidermis- und Subepidermiszellen fluoreszieren zart blau bis grünblau, wobei die Subepidermis nicht durchgehend ausgebildet ist. In der Umgebung der Schließzellen setzt sie aus, hier liegt unter der Epidermis Parenchym mit großen Interzellularen. Die Membranen der gestielten Köpfchenhaare, die in großer Zahl vorhanden sind, leuchten zart blaugrün. Unter der Epidermis liegen zahlreiche blau fluoreszierende Idioblasten, die im Hellfeld deutlich zu sehen

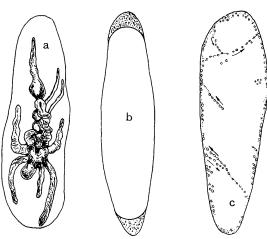


Abb. 12. Stengel-Idioblasten von a Scrophularia nodosa; b Scrophularia alata; c Scrophularia vernalis

sind und oft förmlich aus dem Schnitt herausleuchten. In den Idioblasten findet lebhafte Zirkulationsströmung statt. Im Plasma fallen dabei neben den kleinen Mikrosomen zahlreiche, wesentlich größere Tröpfchen auf. Sie sind untereinander alle gleich groß (Abb. 12 c) und finden sich in keiner anderen Zelle des Schnittes. Von Scrophularia vernalis standen mir leider nur Exemplare aus dem Botanischen Garten zur Verfügung, die aber zu verschiedenen Jahreszeiten untersucht wurden. Die Idioblasten zeigten immer das gleiche Bild, niemals fanden sich Inhaltskörper oder Vakuolenkontraktion. Die Idioblasten im Stengel der drei Scrophularia-Spezies nodosa, alata und vernalis, sind so spezifisch in ihrem Aussehen, daß man mit ihrer Hilfe die Zugehörigkeit eines Schnittes zu einer der drei Spezies bestimmen kann (Abb. 12).

Die Idioblasten in Blatt und Kelchblatt gleichen wieder denen von Scrophularia nodosa und alata, nur scheinen sie hier nicht so häufig zu sein wie bei den beiden anderen Spezies.

II. Untersuchungen an verschiedenen Freilandund Gewächshaus-Scrophulariaceen.

Um die Verbreitung der blau fluoreszierenden Idioblasten innerhalb der Familie festzustellen, wurden sämtliche zur Verfügung stehenden Freiland- und Gewächshausscrophulariaceen im UV-Licht untersucht. Vorausgreifend sei erwähnt, daß sich die Idioblasten mit Jodjodkali und Rhodamin B wunderschön elektiv anfärben. Auch diese beiden Reaktionen fanden beim Aufsuchen der Idioblasten, vor allem in Fällen wo kein Fluoreszenzmikroskop zur Verfügung stand, Verwendung. Die Idioblasten fanden sich bei einigen weiteren Pflanzen, der überwiegenden Mehrzahl der Scrophulariaceen jedoch fehlen sie.

Celsia acturus.

Die untersuchten Pflanzen stammten aus dem Wiener Botanischen Garten. Im Stengel liegen unter der Epidermis zahlreiche blau fluoreszierende Idioblasten. Das Blau ist hier etwas mehr rotstichig als das der *Scrophularia*-Idioblasten. Im Blatt, und zwar unter der oberen Epidermis, finden sich die Idioblasten besonders zahlreich. Niemals besitzen sie aber Inhaltskörper. Die Epidermis der Frucht besteht aus zarten kleinen Zellen, darunter finden sich von kleinen Parenchymzellen umgebene besonders große, stark blau leuchtende Idioblasten, die in der Aufsicht etwa 10mal so groß erscheinen wie die Epidermiszellen. In den Parenchymzellen gibt es zahlreiche blaue Kugeln und Tröpfchen,

die in den Idioblasten niemals gesehen wurden. Die Idioblasten färben sich mit Jodjodkali dottergelb bis braun, die Kugeln und Tropfen in den Parenchymzellen zeigen keinerlei Anfärbung.

Celsia scrophulariifolia.

Auch bei dieser aus dem Wiener Botanischen Garten stammenden Pflanze liegen im Stengel unter der Epidermis zahlreiche blau fluoreszierende Idioblasten verschiedener Größe. Ihr Inhalt zeigt oft feine Sprünge und Haarrisse und erinnert im Aussehen an Craquelée-Porzellan. Auch hier gibt es niemals Inhaltskörper.

In Blütenstiel und Blatt gibt es ebenfalls Idioblasten, die frei von Inhaltskörpern sind.

Verbascum thapsiformae.

Die untersuchten Pflanzen stammten aus der Kritzendorfer Au. Im UV-Licht leuchten die Epidermis- und Subepidermiszellen des Stengels blau. Unter der Epidermis liegen zahlreiche besonders langgestreckte, stark blau fluoreszierende Idioblasten, die sich mit Jodjodkali stark anfärben. Die Idioblasten sind hier Riesenzellen. Schon die Epidermiszellen stellen langgestreckte schmale Zellen dar, die Idioblasten sind jedoch ungefähr 6mal so lang als diese. Bei Plasmolyse zerfallen sie in zahlreiche Teilprotoplaste, die durch dicke Plasmastränge miteinander verbunden sind. Oft sind die Idioblasten nicht in ihrer ganzen Ausdehung gleich stark fluoreszierend; einzelne Partien der Vakuole leuchten besonders stark. Im Hellfeld zeigen sich an diesen Stellen Ansammlungen winziger Körnchen. Auch bei Färbung mit Jodiodkali treten diese Zellpartien stärker hervor. Inhaltskörper, entsprechend denen von Scrophularia nodosa, fanden sich nicht. Auffallend sind die zahlreichen Stockwerkhaare des Stengels. Ihre Stiele leuchten, soweit sie noch lebend sind, strahlend blau, wobei die Basis besonders stark fluoresziert. In den lebenden Haarzellen findet Zirkulationsströmung statt. Die Membranen der abgestorbenen, mit Luft gefüllten Haarstielzellen sowie die toten Zellen der einzelnen Stockwerke zeigen nichts mehr von Blaufluoreszenz, sie leuchten mattolivbraun. Die Grundplatten der Haare, wie auch die einzelnen zeigen eigenartige Wanddurch-Querwände des Haarstieles brechungen (Abb. 13).

Verbascum nigrum.

Die untersuchten Pflanzen stammten aus der Kritzendorfer Au und aus Schladming.

Epidermis- und Subepidermiszellen des Stengels leuchten im UV-Licht blau. In jeder Epidermiszelle liegt ein stark grünblau leuchtendes Klümpchen, das aus kleinen einzelnen Kügelchen zusammengesetzt erscheint und sich in BMB durch die Zelle bewegt. Die Klümpchen erinnern in ihrem Aussehen an die von Scharinger (1936) für die Blütenblatt-Epidermiszellen von Delphinium cultorum beschriebenen und abgebildeten Inhaltskörper. Im Hellfeld erscheinen die Kügelchen stärker lichtbrechend als der übrige Zellinhalt. Auch in den Zellen der Subepidermis gibt es

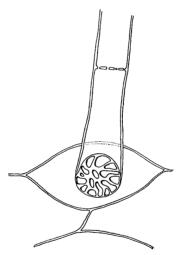


Abb. 13. Verbascum thapsiformae. Basalplatte eines Stockwerkhaares mit Wanddurchbrechungen.

solche Klümpchen, nur sind sie hier wesentlich kleiner als in der Epidermis. In den Epidermiszellen ist sehr rasche Plasmaströmung zu beobachten. Unter der Epidermis liegen wieder besonders langgestreckte, stark blau fluoreszierende Idioblasten, die sich mit Jodjodkali dottergelb bis braun färben. Die Färbung ist diffus, während in den übrigen Zellen zunächst ein farbloser Tröpfchenniederschlag auftritt. Die Tropfen werden dann immer größer, erscheinen bald gelb gefärbt, die größeren und vor allem die in den Randzellen des Schnittes erscheinen braun. In den Idioblasten treten niemals Tröpfchen auf. Von Inhaltskörpern ist hier nichts zu sehen.

In Rhodamin B färben sich die Idioblasten weinrot an, wobei Vakuolenkontraktion eintritt. In den Epidermis- und Subepidermis-

zellen treten Farbstoffentmischungstropfen auf, während die Idioblasten stets diffus gefärbt erscheinen.

Bei den Stockwerkhaaren des Stengels fluoreszieren die Membranen der lebenden Zellen strahlend blau, während die toten, lufterfüllten Zellen olivbraune bis grünliche Membranfluoreszenz zeigen.

Unter der oberen Blatt-Epidermis liegen zahlreiche blau fluoreszierende Idioblasten, die das gleiche Aussehen haben wie die Idioblasten im Blatt von *Scrophularia nodosa*. Auf der Blattunterseite fanden sich keine Idioblasten.

Auch im Kelchblatt gibt es zahlreiche blau fluoreszierende Idioblasten, die unter der Epidermis liegen. Besonders viele Idioblasten gibt es in den Blütenblättern. Sie liegen unter der Epidermis der Außenseite, sind auch im Hellfeld gut zu sehen und leuchten direkt aus dem Präparat heraus. Mit Jodjodkali färben sie sich wesentlich stärker an als die Idioblasten in Stengel, Blatt und Kelchblatt. Auch hier entsteht im Jodkali in allen Zellen ein Tröpfchenniederschlag, während die Idioblasten stets diffus gefärbt sind.

Verbascum phoeniceum.

Die Pflanzen stammten aus Wilfleinsdorf (Leithagebirge). Epidermis- und Subepidermiszellen des Stengels fluoreszieren blau. Unter der Epidermis liegen sehr langgestreckte, kräftig blau fluoreszierende Idioblasten. Verbascum phoeniceum besitzt keine Stockwerkhaare, sondern mehrzellige einreihige Spießhaare, die an der Basis blau, nach oben zu aber mehr grünlichweiß leuchten. Auch gestielte Köpfchenhaare gibt es, die an der Basis blau fluoreszieren.

In den Kelch- und Blütenblättern fanden sich keine Idioblasten.

Verbascum Lychnitis.

Die Pflanzen stammten aus dem Wiener Botanischen Garten. Stengel-Epidermis- und Subepidermiszellen fluoreszieren blau. In den Zellen liegen grünblau fluoreszierende Tropfen. Von Idioblasten war jedoch im Stengel nichts zu finden. Anders im Blatt. Hier finden sich unter der Epidermis der Blattoberseite wieder zahlreiche blau fluoreszierende Idioblasten, die denen in den Blättern von Scrophularia nodosa vollkommen gleichen.

Verbascum thapsus.

Die untersuchten Pflanzen stammten aus Schladming und vom Dreimarkstein.

Epidermis- und Subepidermiszellen des Stengels fluoreszieren blau. Unter der Epidermis liegen langgestreckte, stärker blau fluoreszierende Idioblasten, die sich mit Jodjodkali diffus gelbbraun färben.

Auch im Blütenblatt gibt es zahlreiche, besonders schön blau leuchtende Idioblasten, während im Blatt keine gefunden wurden. In der Frucht liegen ebenfalls unter der Epidermis blau fluoreszierende Idioblasten. Die Epidermiszellen selbst leuchten nur ganz schwach blau und enthalten zahlreiche kleine Kügelchen, die kaum merklich fluoreszieren.

Verbascum phlomoides.

Es wurden Pflanzen aus Schladming und vom Dreimarkstein untersucht.

Im Stengel, dessen Epidermis-, Subepidermis- und Parenchymzellen blau fluoreszieren, gibt es nur ganz selten Idioblasten. Im Blatt liegen unter der oberen Epidermis wieder zahlreiche blau fluoreszierende Idioblasten, die denen von Scrophularia nodosa gleichen. Im Blütenblatt gibt es unter der Epidermis der Außenseite zahlreiche strahlend blau leuchtende Idioblasten. deren Vakuoleninhalt verschiedenes Aussehen haben kann. Oft liegen in der homogenen Masse kleinwinzige Tröpfchen, oft ist die Vakuole auch von einem Knäuel zarter Fäden durchzogen. in dem dann die kleinen Tröpfchen liegen. Tröpfchen und Fäden können aber auch fehlen. Tschirch (1912) führt dies in seiner Beschreibung der Verbascum phlomoides-Blüte auch an, spricht aber gleichzeitig von einer verkorkten Wand der Sekretzellen. Ich konnte allerdings mit Sudan III keine Färbung der Idioblastenmembran erzielen, lediglich die Haare färbten sich gelbrot an. In Alkohol verschwinden Tröpfchen und Fadengeflecht sofort; es entstehen dahei aber keinerlei Kristalle in den Idioblasten.

Verbascum austriacum.

Die untersuchten Pflanzen stammten vom Dreimarkstein. Unter der Stengel-Epidermis liegen vereinzelte, sehr langgestreckte, blau fluoreszierende Idioblasten. Unter der oberen Blatt-Epidermis gibt es zahlreiche Idioblasten, auf der Unterseite der Blätter nur sehr wenige.

Im Blütenblatt sind die Idioblasten wieder sehr zahlreich; die Intensität ihrer Fluoreszenz schwankt stark. Auf den Blütenblättern sitzen zahlreiche gestielte Sternhaare, die besonders kräftig blau leuchten.

Verbascum Blattaria.

Von Verbascum Blattaria, der Versuchspflanze von Härtel. Kenda und Weber (1950) und Härtel (1952), stand mir leider kein lebendes Exemplar zur Verfügung. Es wurde eine im Institutsherbar vorhandene Pflanze untersucht. Im finden sich vereinzelte lange Idioblasten. Unter der oberen Blatt-Epidermis sind sie häufiger, während sie auf der Blattunterseite nur sehr spärlich vertreten sind. Ganz besonders zahlreich aber sind sie in den Kelchblättern und Blütentragblättern. Hier liegen sie dicht nebeneinander und leuchten aus dem Herbar-Schnitt heraus. Sie färben sich mit Jodjodkali und Rhodamin B stark an. Auch mit verdünnter Jodtinktur, mit der Härtel, Kenda und Weber an lebenden Exemplaren keine Färbung erzielen konnten, färben sich die Idioblasten, wie auch die anderer Scrophulariaceen, intensiv rotbraun. Hingegen konnte ich mit dem Schiffschen Reagens keinerlei Färbung erzielen. Sie gelang allerdings auch bei keiner der anderen Scrophulariaceen, die lebend untersucht wurden.

In der folgenden Liste sind alle untersuchten Pflanzen verzeichnet. Die Namen der Pflanzen mit blau fluoreszierenden Idioblasten sind gesperrt gedruckt. Die einzelnen Arten innerhalb einer Gattung sind alphabetisch gereiht. Da im Herbarmaterial die Färbung der Idioblasten mit Jodjodkali wie am frischen Material gelang, wurden auch die im Institut vorhandenen Herbarpflanzen untersucht. Für Verbascum und Scrophularia sind am Schluß noch 2 Tabellen zusammengestellt.

Verbascum

austriacum
Lychnitis
nigrum
phlomoides
phoeniceum
speciosum
thapsiformae
thapsus
nur Herbar:
Blattaria
pulverulentum

Celsia

 $\begin{array}{c} a\ c\ t\ u\ r\ u\ s \\ s\ c\ r\ o\ p\ h\ u\ l\ a\ r\ i\ i\ f\ o\ l\ i\ a \end{array}$

Nemesia

floribunda melissifolia strumosa

Linaria

alpina Cymbalaria dalmatica genistifolia purpurea vulgaris

Antirrhinum majus Phygelius capensis Russelia equisetifolia

Scrophularia	Cymbalaria
$a \ l \ a \ t \ a$	fruticulosa
$n \circ d \circ s a$ (Inhaltskörper)	hederifolia
vernalis	lutea
nur Herbar:	montana
bosniaca	of ficinal is
canina	polita
Hoppii	praecox
laciniata	prenja
$S\ c\ o\ p\ o\ l\ i\ i$	$pros \ddot{t} rata$
	sature oides
Pentastemon	scutellata
barbatus	triloba
campanulatus	triphylla
diffusus	verna
glaber	Wulfenia caranthiaca (Herbar)
Tetranema mexicana	Digitalis
$Paulownia\ tomentosa$	Amendiana
Mimulus guttatus	ambigua
Hebenstreitia integrifolia	lutea
Veronica	media
alpina	purpurea
Andersoni	nur Herbar:
aphylla	ferruginea
beccabunga	laevigata
chamaedris	
fruticans	Melampyrum
gentianoides	nemorosum
latifolia	pratense
longifolia	silvaticum
$longifolia\ { m var.}\ cordifolia$	vulgatum
orchidea	<i>Tozzia alpina</i> (Herbar)
pseudochamaedris	Euphrasia
serpyllifolia	cuspidata
spicata	minima
Tourne fortii	picta
nur Herbar:	$\hat{R}ostkowiana$
Anagallis	$Pedicularis\ rostrato\text{-}capitata$
anagalloides	A lectorolophus
arvensis	hirsutus
austriaca	lance olatus
bellidioides	majus
Bonarota	montanus
DORWI OVW	

Verbascum		Stengel	Blatt Oberseite	Blatt Un- terseite	Kelch- blatt	Blüten- blatt
Blattaria	Herbar	+	++	+	+++++	
nigrum	lebend	++	++		+++	+++
	Herbar	+				
phoeniceum	lebend	+			-	
	Herbar	+				
Lychnitis	lebend	_	++			
	Herbar	_	++		_	
austriacum	lebend	+	++,	+	+++	+++
	Herbar	+	++	_	+++	
phlomoides	lebend	_	++			+++
thap siformae	lebend	+				
thapsus	lebend	+	-			+++
speciosum	lebend	_	_	_		

Wie die Zusammenstellung zeigt, ließen sich bis jetzt blau fluoreszieren de Idioblasten nur bei Celsia, Verbascum und Scrophularia nachweisen, wobei nur die Idioblasten im Stengel von Scrophularia nodosa die eigenartigen Inhaltskörper besitzen.

Anschließend seien noch einige weitere Scrophulariaceen angeführt, die zwar keine blau fluoreszierenden Idioblasten besitzen, die aber doch auch erwähnenswerte Eigenschaften zeigen.

Linaria vulgaris. Linaria alpina.

Im UV-Licht zeigen sich keinerlei blau fluoreszierende Idioblasten. Mit Jodjodkali färbt sich die gesamte Epidermis dotter-

Scrophularia		Stengel	Blatt	Kristalle in Alkohol
nodosa	lebend	+ (Inhaltskörper)	+	+ (Stengel)
nouosa	Herbar	+ (Inhaltskörper)	+	+ (Stengel)
alata	lebend	+	+	_
<i>uiaia</i>	Herbar	+	+	_
vernalis	lebend	+	+	_
vernaus	Herbar	+	+	_
Scopolii	Herbar	+	+	_
laciniata	Herbar	_	_	_
Hoppei	Herbar	_	_	_
canina	Herbar	_	_	_
bosniaca	Herbar	_	_	_

gelb, einzelne Flecken sogar braun. Auch mit Rhodamin B färben sich die Epidermiszellen diffus an, wobei die stärker gefärbten Zellen Vakuolenkontraktion zeigen.

Linaria dalmatica. Linaria genistifolia.

Beide zeichnen sich durch besonders reichliches Auftreten von Hesperidin-Sphäriten aus. Sie liegen in der Epidermis und im darunter gelegenen Parenchym von Stengel und Blatt. Über ihr Vorkommen bei *Linaria genistifolia* hat bereits Molisch (1917) berichtet.

Bei Linaria genistifolia färben sich die farblosen Epidermiszellen und die darunter liegenden Zellen in konzentriertem NH₃ gelb, was wohl auf das Vorhandensein von gelösten Flavonolen im Zellsaft deutet. Die gelbgrünen Sphärite werden dottergelb, beginnen aber bald auszublassen und sich aufzulösen. Sie bekommen dabei einen glänzenden, stark lichtbrechenden Mantel, der schließlich als verknitterter Ring in der Zelle liegen bleibt. In toten Epidermiszellen färbt sich nichts an, das koagulierte Plasma bleibt farblos.

Veronica serpyllifolia.

Im Stengel leuchten Kerne und Plasma im UV-Licht zart messinggelb, die Haare leuchten kräftig blau. In der oberen Blattepidermis findet sich in mehreren Zellen je ein großer Tropfen, der grüngelb fluoresziert und mit Jodjodkali braun wird. Die Haare färben sich auch so wie die sämtlicher *Veronica*-Arten mit Jodjodkali braun.

Pentastemon barbatus. P. campanulatus. P. diffusus.

Bei den untersuchten *Pentastemon*-Arten fiel auf, daß sowohl im Stengel als auch im Blatt unter einer fast fluoreszenzfreien Epidermis eine grellgrünblau fluoreszierende Subepidermis liegt.

III. Untersuchungen an den blau fluoreszierenden Idioblasten und Inhaltskörpern von Scrophularia.

Um die physikalische und chemische Natur der Idioblasten und ihrer Inhaltskörper zu klären, wurde ihr Verhalten gegen Fixierungsmittel, Säuren, Laugen und verschiedene andere Chemikalien, vor allem gegen die verschiedensten Farbstoffe, eingehend untersucht. Die Beobachtungen werden in diesem Abschnitt rein beschreibend gebracht; eine zusammenfassende Deutung der Ergebnisse folgt im nächsten Kapitel.

Äthylalkohol 96 % ig.

Versuche, die Inhaltskörper von Scrophularia nodosa wie die der Leguminosen (Toth-Ziegler 1953) mit Alkohol zu fixieren, brachten negative Ergebnisse. Die Inhaltskörper von Scrophularia nodosa lösen sich im Alkohol augenblicklich auf. Beim Durchsaugen von Alkohol durch das Präparat scheinen für einen kurzen Augenblick zunächst die einzelnen Arme der Inhaltskörper aufzuquellen, dann aber ziehen sie sich zusammen und der ganze Körper verschwindet. Für kurze Zeit erscheint die Zelle leer, dann schießen

plötzlich ein bis mehrere kugelige Büschel von feinen Kristallnadeln an, die olivbraun gefärbt sind. Beim direkten Einlegen der Schnitte in Alkohol scheint die Kristallbildung noch rascher vor sich zu gehen, da beim Beobachten solcher Schnitte im Mikroskop die Kristalle meist schon vorhanden sind. Im UV-Licht leuchten die Kristalle nicht auf, in vereinzelten Fällen erscheinen sie rot. dabei dürfte es sich aber um eine Anfärbung der Kristalle mit dem aus den Plastiden gelösten Chlorophyll gehandelt haben. Die Vakuolen der Idioblasten zeigen nach der Alkoholbehandlung keine Spur von Blaufluoreszenz mehr. Neben den Kristallbüscheln liegen der Kern und das koagulierte Plasma in der Zelle. Während die Inhaltskörper zwischen gekreuzten Nikols niemals aufleuchten, zeigen die Nadelbüschel das Auslöschungskreuz. Die Menge der gebildeten Kristalle steht in direktem Verhältnis zur Größe der Inhaltskörper. In Idioblasten mit kleinen Körpern entstehen meist nur 1 oder 2 Nadelbüschel (Taf. 2, Abb. 14, 15), während die Zellen mit großem Inhaltskörper nach der Alkoholbehandlung ganz erfüllt von Kristallnadelbüscheln erscheinen (Taf. 3, Abb. 16, 17). Die Kristallkugeln zeigen keinerlei Hülle wie etwa die Hesperidin-Sphärite, sie entstehen streng lokal in den Idioblasten, und zwar nur in solchen, in denen sich Inhaltskörper befanden. Liegen in einem Schnitt Idioblasten mit, neben solchen ohne Inhaltskörper, so entstehen nach der Alkoholbehandlung immer nur in den körperhältigen die Kristallnadelbüschel, während in den anderen keine Spur von Kristallen zu sehen ist. Die Versuche wurden an zahlreichen Schnitten verschiedener Pflanzen ausgeführt und brachten stets das gleiche Ergebnis. In den Idioblasten der Blätter und Früchte, für die bisher keine Inhaltskörper nachgewiesen werden konnten, entstehen in Alkohol niemals Kristalle. In den jungen Idioblasten der aus Samen gezogenen Pflänzchen entstehen niemals Kristalle, solange die Idioblasten noch keine Inhaltskörper besitzen. Auch in den Idioblasten mit den ersten Anzeichen von Inhaltskörpern (Abb. 1 a—c) entstehen noch keine Kristalle. Erst in den Zellen mit wohlausgebildeten Körpern erscheinen nach der Alkoholbehandlung die Kristallnadelbüschel. Bemerkenswert war, daß in einigen Fällen nach längerem Wässern der Schnitte (48 Stunden bis 5 Tage) nicht mehr in allen Idioblasten mit Inhaltskörpern Kristalle entstanden. Frische Schnitte geben sie dagegen immer. Auch in Zellen, die in Zuckerlösung plasmolysiert waren, entstanden die Kristalle. Selbst in 50 Jahre alten Herbarpflanzen sind die Inhaltskörper noch zu sehen und geben, genau so wie die frischer Pflanzen, im Alkohol schöne Kristallnadelbüschel.

Die im Alkohol entstandenen Kristalle verschwinden beim Durchsaugen von Wasser durch das Präparat rasch. In einem einzigen Fall gelang es durch nochmaliges Einlegen des Schnittes in Alkohol, die Kristalle erneut zum Entstehen zu bringen. Der Versuch wurde zwar noch öfters wiederholt, ist aber kein zweitesmal gelungen. Beim Anfärben mit wäßriger Rhodamin-B-Lösung lösen sich die Kristalle auf, die Idioblasten färben sich elektiv schön weinrot und fluoreszieren orangegelb. In alkoholischem Rhodamin B hingegen färben sich die Kristalle rosarot und fluoreszieren fahlgelb, während die Idioblasten selbst nicht gefärbt erscheinen und im UV-Licht nicht aufleuchten. Auch in Jodjodkali lösen sich die Kristalle sofort auf, wobei sich die Zellen stark braun anfärben. Die Kristalle lösen sich in Chloroform sofort auf, ebenso in konzentrierter Ameisensäure und konzentrierter HCl. In Essigsäure geht die Auflösung langsamer vor sich. Die Büschel erscheinen immer weniger dicht und blassen aus, bis nichts mehr von ihnen zu sehen ist. Ähnlich verhalten sie sich in NH₅. In Azeton sind sie noch nach 24 Stunden unverändert, anschließend in Wasser gebracht, lösen sie sich sofort auf. In konzentrierter H₂SO₄ und in α-Naphtol + H₂SO₄ lösen sich die Kristalle ohne jegliche Farbentwicklung auf. Inulin, das sich ja auch mit Alkohol im Gewebe fällen läßt, in kaltem Wasser aber nur schwer löslich ist, färbt sich mit α-Naphtol und Schwefelsäure sofort tiefviolett. Neben den Inulinsphäriten entstehen in den Knollen von Dahlia im Alkohol noch kugelige Drusen, die aus feinen, radial angeordneten Nadeln zusammengesetzt sind und Ca-Phosphat-Sphärite darstellen (Molisch 1923, Rippel 1932). Sie sind farblos oder gelblich, lösen sich langsam in Wasser, NH3 und Essigsäure, schnell in HCl, HNO3 und H2SO4. Zwischen gekreuzten Nikols zeigen sie ein dunkles Kreuz mit analoger Orientierung der optischen Achsen wie die Inulinsphärite und Stärkekörner. Ihr Vorkommen wurde für einige weitere Pflanzen (oberirdische Organe von Agave, Blattstiele von Angiopteris und Marattia) nachgewiesen. Die für kaktiforme Euphorbiaceen beschriebenen Ca-Phosphat-Sphärite wurden später als Kalkmalophosphat-Sphärite identifiziert.

Auch die nach Alkoholeinwirkung in den Idioblasten von Scrophularia nodosa entstehenden Kristallnadelbüschel sind gelblich bis olivbraun, lösen sich langsam in NH₃ und Essigsäure, schnell in HCl, HNO₃ und H₂SO₄; in Wasser lösen sie sich allerdings auch schnell, die Ca-Phosphat-Sphärite hingegen nur langsam. Möglicherweise handelt es sich hier auch um eine Ca-Phosphatverbindung mit einem im Zellsaft vorkommenden Stoff, da sich die Kristalle ebenso wie der Zellsaft mit Rhodamin B anfärben.

Auch die vordem leere Vakuole färbt sich nach dem Auflösen der Kristalle in Wasser wieder mit Rhodamin B und Jodjodkali an.

Alte Angaben, nach denen bei *Scrophularia nodosa* Inulin vorkommen soll (Wehmer 1929), beruhen vermutlich auf der Beobachtung der obenerwähnten Kristallnadelkugeln.

Von Scrophularia alata wurden zahlreiche Schnitte von Pflanzen verschiedener Standorte in Alkohol eingelegt. Auch hier verschwindet die Blaufluoreszenz der Idioblasten, niemals aber entstehen irgendwelche Kristalle in ihnen.

Bei Scrophularia vernalis bildet sich in Alkohol in den Zellen der Subepidermis ein feinkörniger farbloser Niederschlag. Die Blaufluoreszenz der Idioblasten verschwindet, von Kristallen ist aber auch hier keine Spur zu sehen.

Aus all dem geht hervor, daß sich die Kristalle nur in Idioblasten bilden, die Inhaltskörper besitzen, also aus einem Stoff bestehen, der am Aufbau dieser Körper beteiligt sein muß. Dieser Stoff, vermutlich eine Ca-Phosphor-Verbindung, kommt nur bei Scrophularia nodosa in den Idioblasten des Stengels vor, da alle anderen untersuchten Idioblasten mit Alkohol keine Kristalle geben. Vermutlich verursacht er allein die Ausfällung der Inhaltskörper im Zellsaft der Idioblasten. In den Stengelidioblasten, die keine Inhaltskörper besitzen, scheint er gar nicht oder in zu geringer Konzentration vorhanden zu sein.

Formol 1:4.

Auch in Formol lassen sich die Körper nicht fixieren. Sie lösen sich zwar nicht sofort auf, nach 35—40 Minuten ist jedoch nichts mehr von ihnen zu sehen. Die Idioblasten fluoreszieren aber weiterhin strahlend blau.

Ciaccio.

Auch im Gemisch von Ciaccio, das aus 80 cm³ K₂Cr₂O₇, 20 cm³ Formol und 5 cm³ Essigsäure besteht, lösen sich die Inhaltskörper auf.

Pikrinsäure-Eosin.

In Pikrinsäure lösen sich die Inhaltskörper zunächst nicht auf. Wird der Schnitt in Eosin übertragen, so färben sich die Idioblasten stark an, die Inhaltskörper aber verschwinden.

Carminessigsäure.

Die Körper lösen sich vollständig auf; Carminessigsäure ist als Fixierungsmittel nicht geeignet.

Festigkeit der Inhaltskörper.

Klopfen auf das Deckglas sowie Reiben des Schnittes zwischen zwei Objektträgern verändert die Inhaltskörper nicht. Auch starker Druck mit der Spitze einer feinen Präpariernadel auf das Deckglas über den Idioblasten verändert die Körper zunächst nicht, sie scheinen ziemlich widerstandsfähig zu sein. Erst nach längerer Zeit gelingt es, den Körper in mehrere Stücke zu zerdrücken. Wird so ein Schnitt mit zerdrückten Inhalts-

körpern in Alkohol gebracht, so entstehen in den Idioblasten, analog den einzelnen Stückchen des Inhaltskörpers, zahlreiche ganz kleine Kristallnadelbüschel.

Zentrifugieren.

Schnitte der Stengelepidermis von Scrophularia nodosa wurden an kleine, mit Filterpapier umkleidete Holzstäbchen gebunden, die in wassergefüllte Zentrifugengläschen eingestellt wurden. Sie blieben 2 Stunden lang bei 2800 Umdrehungen (r = 14 cm) in der Zentrifuge. Nach dieser Zeit sind alle Inhaltskörper des Schnittes an das zentrifugale Ende des sie beherbergenden Idioblasten verlagert, sind aber in ihrer Form keineswegs verändert, auch die ganz zarten, aus feinen Fäden aufgebauten nicht, was immerhin für eine gewisse Festigkeit der Körper spricht.

Einfluß hoher Temperaturen.

Stengel-Flächenschnitte von Scrophularia nodosa wurden, in einem Tropfen Wasser unter Deckglas liegend, über einer Flamme so lange erwärmt, bis das Wasser aufkochte. Von den Inhaltskörpern ist dann nichts mehr zu sehen. Die Idioblasten fluoreszieren zwar noch schwach blau, färben sich aber z.B. mit Bismarckbraun nicht mehr an. Bei einem Schnitt, der im Sublimationsring am Objektträger trocken erhitzt wurde, sind nach kurzer Zeit die Inhaltskörper noch unverändert vorhanden. Nach längerem Erhitzen aber ist in den meisten Idioblasten nichts mehr von ihnen zu sehen, sie sind jetzt von einem feinkörnigen Niederschlag erfüllt. Der Schnitt ist bedeckt mit Hesperidinkriställchen. Die Idioblasten färben sich mit Rhodamin B elektiv weinrot an.

Austrocknen.

Schnitte, die 24 Stunden und länger auf dem Objektträger lagen und vollkommen vertrocknet sind, zeigen noch immer blaue Fluoreszenz der Idioblasten. Auch die Inhaltskörper sind noch vorhanden. Selbst bei jahrzehntealten Herbarpflanzen sind Idioblasten und Inhaltskörper noch gut zu sehen, man kann sie auch noch färben und mikrochemisch untersuchen. Die Inhaltskörper sehen in diesen alten Exemplaren wie aus einzelnen Stückchen zusammengefügt aus. Neben ihnen liegt das koagulierte Plasma und der Zellkern in der Zelle. Im Alkohol entstehen Kristallnadelbüschel wie an frischem Material.

Wässern.

Schnitte, die 5 Tage in Leitungswasser lagen, haben noch immer strahlend blau fluoreszierende Idioblasten, auch die Inhaltskörper sind völlig unverändert. Ein zufällig neben dem Schnitt isoliert liegender Idioblast verhält sich ebenso. Auffallend ist, daß nach längerem Wässern in den Idioblasten im Stengel von Scrophularia nodosa Vakuolenkontraktion eintritt, die in keiner anderen Zelle des Schnittes beobachtet werden konnte. Die Idioblasten gleichen dann denen im Stengel von Scrophularia alata. Auch hier ist der Tonoplast deutlich sichtbar und besser zu sehen als die Zellmembran.

UV-Licht.

Ein Schnitt, der 10 Minuten lang dem UV-Licht des Fluoreszenzmikroskops ausgesetzt war, zeigte noch keine Veränderungen. Genau in der Mitte des Gesichtsfeldes befand sich ein Idioblast

Abb. 17.







Abb. 16. Scrophularia nodosa. Idioblast mit Kristallnadelkugeln in 96%igem Äthylalkohol. Abbildungsmaßstab: 129fach. Nachträglich vergrößert auf 245fach. Abb. 17. Scrophularia nodosa. Idioblast mit Kristallnadelkugeln in 96%igem Äthylalkohol. Abbildungsmaßstab: 287fach. Nachträglich vergrößert auf 574fach. Abb. 19. Scrophularia nodosa. Stengelschnitt in 1: 2000 Uranin d. W. Aufnahme im UV-Licht. In den Idioblasten sind die Vakuolen mattgrün, die Inhaltskörper grellgrün fluorochromiert. In den übrigen Zellen leuchten nur Kerne und Plasma grün. Abbildungsmaßstab: 32fach. Nachträglich vergrößert auf 83fach.

©Akademie d. Wissenschaften Wien: download unter www.biologiezentrum.at

mit einem Inhaltskörper, der nun laufend beobachtet wurde (Abb. 18).

Nach 15 Minuten war die äußere Form des Körpers nicht verändert, wohl aber seine Struktur. Der Körper sieht aus wie aus kleinen Klümpchen zusammengesetzt, die zunächst aber nicht regellos liegen, sondern in Spirallinien angeordnet sind. Inhaltskörper und Idioblasten fluoreszieren noch blau. Nach einer Stunde sind die Veränderungen des Körpers schon weiter fortgeschritten. Die äußeren Formen sind abgerundet, die Klümpchen lassen keine regelmäßige Anordnung mehr erkennen. Im Inneren des Körpers treten Vakuolen auf (Abb. 18 b), er leuchtet nicht mehr blau. Der Idioblast fluoresziert noch schwach. Nach 1½ Stunden ist der

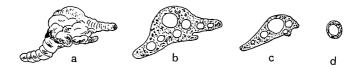


Abb. 18. Scrophularia nodosa. Veränderungen eines Inhaltskörpers unter der Einwirkung von UV-Licht.

a normaler Inhaltskörper; b nach 1 Stunde UV-Lichteinwirkung; c nach 1½ Stunden UV-Lichteinwirkung; d nach 2 Stunden UV-Lichteinwirkung.

Körper schon wesentlich kleiner und von Vakuolen durchsetzt (Abb. 18 c). Nach 2 Stunden ist von Blaufluoreszenz nichts mehr zu sehen, vom Inhaltskörper ist nur mehr ein schmaler Ring übriggeblieben. Idioblast und Rest des Inhaltskörpers färben sich aber mit Jodjodkali noch genau so wie die außerhalb des Gesichtsfeldes gelegenen unveränderten Idioblasten. Der Inhaltskörper löst sich also unter der Einwirkung der UV-Strahlen auf, und die Vakuole verliert ihre blaue Fluoreszenzfarbe. Fluoreszenzverlust nach UV-Strahleneinwirkung ist bereits für zahlreiche Stoffe bekannt (Haitinger 1937, Toth-Ziegler 1953).

Plasmolyse-Versuche.

Traubenzucker.

An Stengelschnitten von Scrophularia nodosa tritt in 0,8 mol Traubenzucker in der Subepidermis schöne Konvexplasmolyse ein. Die Epidermiszellen zeigen neben konvexen Menisken noch einige konkave Buchten, die Protoplaste der Idioblasten hingegen sind nur in ganz kleinen konkaven Buchten von der Zellwand abgehoben. In den Zellen, die einen Hesperidinsphärit enthalten, liegt dieser meist in einem Plasmaballen, der vom übrigen Protoplast

abgeschnürt ist und der Zellwand anliegt. Nach 24 Stunden zeigen alle Zellen des Schnittes, mit Ausnahme der Idioblasten, schöne Konvexplasmolyse. In den Idioblasten, die große Inhaltskörper beherbergen, zwingen diese dem Protoplasten die Form auf. Vakuolen und Körper fluoreszieren strahlend blau. In den Zellen, die einen Sphärokristall enthalten, liegt dieser jetzt völlig isoliert in einer Zellecke, während der Protoplast schön konvex abgerundet daneben liegt. In Alkohol gebracht, entstehen auch hier in den Idioblasten die Kristallnadelbüschel.

KNO₃.

In einer 0,6 molaren KNO₃-Lösung runden sich die Protoplaste der Subepidermiszellen wieder am schnellsten und schönsten ab; sie erscheinen auch stärker kontrahiert als die der Epidermiszellen, die sich ebenfalls konvex abrunden. In den Idioblasten hebt sich der Protoplast nur in vielen kleinen konkaven Buchten ab. Die Idioblasten scheinen ziemlich widerstandsfähig zu sein. Nach dreimaligem Plasmolysieren in 1,0 mol KNO3 und nachfolgendem Einbringen in Leitungswasser sind sämtliche Zellen des Schnittes, mit Ausnahme der Idioblasten, abgestorben. Diese fluoreszieren noch immer strahlend blau, Torsion und spiraliger Bau der einzelnen Fasern sind deutlich zu sehen. Erst bei neuerlicher Plasmolyse sterben die Idioblasten ab, färben sich zunächst aber noch mit Rhodamin B an. Bald blassen sie aber aus, von den Inhaltskörpern ist nichts mehr zu sehen. Schon bei ganz jungen Pflänzchen zeigen sich die gleichen Unterschiede im Plasmolyseverhalten der Idioblasten und der übrigen Zellen des Schnittes.

An Blattflächenschnitten, die in 0,6 mol KNO₃ plasmolysiert wurden, gab in vielen Idioblasten der kontrahierte Protoplast ein ziemlich getreues, verkleinertes Abbild der Zelle, wie dies G i c k lhorn und Weber (1926) für die festen Zellsäfte der Boraginaceen erstmalig beschrieben haben. Die Epidermiszellen sind schön konvex plasmolysiert, während in den meisten Palisadenzellen ein Tonoplast neben dem übrigen koagulierten Zellinhalt liegt.

Auch bei Scrophularia vernalis heben sich die Protoplaste der Idioblasten in zahlreichen kleinen konkaven Buchten von der Zellwand ab, während Epidermis- und Subepidermiszellen Konvexplasmolyse zeigen. In den Idioblasten sind zahlreiche Hechtsche Fäden zu sehen. Die konkaven Buchten flachen sich mehr und mehr ab und werden von Plasma ausgefüllt, so daß der Protoplast zwar nach außen hin abgerundet erscheint, durch die unregelmäßigen Plasmaansammlungen in den Buchten aber ein eigen-

artiges "verknittertes" Aussehen erhält. Nach einer halben Stunde ist davon nichts mehr zu sehen. In den meisten Idioblasten sind Plasmakappen ausgebildet, wobei der Tonoplast besonders gut sichtbar ist. Er ist wesentlich derber und besser zu sehen als die äußere Kontur des Protoplasten (Plasmalemma) und seine Zellmembran. In den Epidermis- und Subepidermiszellen sind keine Kappen ausgebildet.

KCNS.

In einer 2molaren Lösung von KCNS kugeln sich in den Stengelzellen von Scrophularia nodosa die Protoplaste sofort ab. In den Idioblasten heben sie sich in zahlreichen konkaven Buchten von der Wand ab. Später zwingt ihnen der Inhaltskörper die Form auf. Bei Wasserzutritt entstehen in den meisten Zellen Tonoplaste. In den Idioblasten aber tritt Deplasmolyse ein, die Körper bleiben unverändert. Bei neuerlicher Plasmolyse in Traubenzucker aber sterben sie ab. Nach einer Stunde Verweilen in der Zuckerlösung ist von den Inhaltskörpern nichts mehr zu sehen.

Die Ergebnisse der Plasmolyseversuche stehen mit den Beobachtungen von Härtel, Kenda und Weber (1950) an den Plasmal-Idioblasten von Verbascum Blattaria in Einklang. Sie fanden den Plasmolyseeintritt in den Idioblasten gegenüber den anderen Zellen verzögert, oft plasmolysierten sie selbst in 1- bis 2molarem Traubenzucker bzw. CaCl₂ überhaupt nicht, während die übrigen Zellen des Schnittes hochgradige Plasmolyse aufwiesen.

Mikrochemische Reaktion und Färbeversuche. Amylalkohol.

Nach einigen Minuten ist von den Inhaltskörpern nichts mehr zu sehen. Die Idioblasten haben einen feinkörnigen Inhalt und sehen im Hellfeld bräunlich aus. Im UV-Licht leuchten sie weiterhin blau, sie färben sich auch noch mit Bismarckbraun an. Hier löst sich also nur der Körper innerhalb der Zelle auf, der Vakuoleninhalt bleibt erhalten.

Äther.

Die Inhaltskörper lösen sich im Äther innerhalb von 2 Minuten vollständig auf. Die Idioblasten leuchten aber weiterhin blau. Schnitte von Scrophularia nodosa und alata, die 24 und 48 Stunden in einem Fläschchen mit Äther lagen, zeigen im UV-Licht in den Idioblasten einen grünblau leuchtenden körnigen Inhalt. Bei Scrophularia nodosa ist nichts mehr von den Inhaltskörpern zu sehen, auch entstehen im Alkohol keinerlei Kristalle in den Idioblasten. In Rhodamin B-Lösung färben sich in beiden Schnitten die Idioblasten aber noch immer elektiv weinrot an. Auch an Querschnitten, die 24 Stunden lang im Äther lagen, färben sich die Idioblasten mit Rhodamin B weinrot an und fluoreszieren goldorange. Von den blau fluo-

reszierenden Zellen im Bast ist nichts mehr zu sehen. Der Inhalt der Markund Rindenzellen fluoresziert grasgrün, ihre Membranen rosarot bis gelblichrot. Die verholzten Zellwände fluoreszieren violettrot. Es war also selbst nach 48 Stunden der die Färbung verursachende Stoff noch in den Idioblasten vorhanden.

Azeton.

In Azeton verschwinden die Inhaltskörper sofort, die Zellen fluoreszieren aber noch zart blau. Im Hellfeld erscheinen die Idioblasten von einem stärker lichtbrechenden, schaumigen Inhalt erfüllt und sind dadurch im Schnitt gut zu sehen. In Rhodamin B färben sie sich stark weinrot an, in Alkohol entstehen aber keinerlei Kristalle. Auch nach 24 Stunden bieten sie das gleiche Bild.

Schnitte von Scrophularia alata, die 24 Stunden in Azeton lagen, zeigen ebenfalls noch zarte Blaufluoreszenz der Idioblasten, im Hellfeld erscheint ihr Inhalt feinkörnig und färbt sich mit Rhodamin B weinrot. Auch an Stengelquerschnitten von Scrophularia nodosa und alata ließen sich noch nach 48 Stunden die Idioblasten mit Rhodamin B weinrot anfärben. In den Idioblasten von Scrophularia nodosa entsteht in Alkohol ein feinkörniger Niederschlag aber keine Kristallnadelbüschel.

Benzol.

Die Inhaltskörper lösen sich in Benzol auf, die Idioblasten fluoreszieren zunächst noch blau. In Schnitten von Scrophularia nodosa und alata, die 48 Stunden in Benzol lagen, ist im UV-Licht nichts mehr von den Idioblasten zu sehen. In Rhodamin B jedoch färben sie sich noch wunderschön elektiv weinrot an. Bei Scrophularia nodosa entstehen in den Idioblasten im Alkohol sogar noch die Kristalle; allerdings sind es nicht einige wenige große, sondern viele kleine Einzelbüschel. Der Inhaltskörper löst sich also im Benzol auf, der Stoff bleibt aber in der Vakuole gelöst und so wenig verändert vorhanden, daß sich im Alkohol sofort die Kristalle bilden.

Chloroform.

Beim Durchsaugen von Chloroform durch das Präparat verkleinert sich zunächst die Vakuole der Idioblasten. Kurz darauf tritt Rückdehnung ein, das Chloroform ist jetzt in die Zelle eingedrungen. Gleichzeitig mit der Rückdehnung löst sich der Inhaltskörper auf. Die Vakuole erscheint dann von einem feinkörnigen Inhalt erfüllt und fluoresziert weiterhin blau. In Alkohol verschwindet diese Fluoreszenz bald. Nach 24 Stunden ist auch im Chloroform nichts mehr von Blaufluoreszenz zu sehen, doch färben sich die Idioblasten noch mit Rhodamin B weinrot an. Auch nach 48 Stunden bieten sie das gleiche Bild. In Alkohol entstehen auch hier, wie nach der Benzolbehandlung, viele kleine Kristallnadelbüschel in den Idioblasten.

Schwefelkohlenstoff.

Die Inhaltskörper lösen sich in CS₂ gänzlich auf, die Idioblasten fluoreszieren zunächst noch blau. Nach 24 Stunden ist weder bei *Scrophularia nodosa* noch bei *Scr. alata* etwas von Blaufluoreszenz der Idioblasten zu sehen.

Tetrachlorkohlenstoff.

Nach 5 Minuten zeigt sich noch keinerlei Wirkung. Schnitte, die 24 Stunden in Tetrachlorkohlenstoff lagen, zeigen keine Spur von Inhaltskörpern und Blaufluoreszenz mehr. In Rhodamin B und Jodjodkali färben

sich die Idioblasten aber noch immer stark an. In Alkohol entstehen keine Kristalle.

Anilin.

In Anilin bleiben die Körper zunächst unverändert, die Idioblasten fluoreszieren blau. Nach 5 Minuten erscheinen die Idioblasten im UV-Licht grün, von den Inhaltskörpern ist nichts mehr zu sehen.

Glyzerin.

In Glyzerin lösen sich die Körper allmählich auf, die Idioblasten fluoreszieren zunächst noch blau. Nach 24 Stunden ist auch die Blaufluoreszenz verschwunden. Auch hier löst sich wie in Benzol und Chloroform der Körper innerhalb der Vakuole auf, der Stoff bleibt aber soweit unverändert erhalten, daß im Alkohol noch immer die Kristalle entstehen.

Pyridin.

Die Körper lösen sich bei Zutritt des Pyridins auf, die Blaufluoreszenz der Idioblasten erlischt.

Xylol.

In Xylol lösen sich die Inhaltskörper zunächst nicht auf, die Idioblasten leuchten aber nur mehr schwach blau. Nach einer halben Stunde Xyloleinwirkung sind die Körper zwar nicht mehr schön, aber immerhin noch als solche erkennbar und erscheinen bräunlich gefärbt. Nach 48 Stunden ist nichts mehr von den Inhaltskörpern zu sehen, auch die Blaufluoreszenz der Idioblasten ist völlig erloschen.

Essigsäure.

In Essigsäure lösen sich die Inhaltskörper auf, die Blaufluoreszenz der Idioblasten erlischt. Mit Rhodamin B färbt sich nichts mehr.

Oxalsäure, Ameisensäure.

Auch hier lösen sich die Inhaltskörper auf, und die blaue Fluoreszenz der Idioblasten erlischt.

Azetaldehyd 33% ig.

Die Inhaltskörper lösen sich allmählich auf, gleichzeitig erlischt langsam die Blaufluoreszenz der Idioblasten. Nach 20 Minuten ist nichts mehr zu sehen

Azetessigsäure ester.

Die Inhaltskörper lösen sich langsam auf, die Idioblasten fluoreszieren aber weiterhin strahlend blau.

H_2SO_4 .

Die Inhaltskörper lösen sich in Schwefelsäure auf, die Blaufluoreszenz erlischt. Über den Schnitt verstreut liegen kleine Gipsnädelchen.

HCl.

Die Körper scheinen in konz. HCl zunächst aufzuquellen, werden dann aber rasch kleiner und sind bald ganz verschwunden. Von blauer Fluoreszenz ist dann auch nichts mehr zu sehen.

HNO3.

Die Inhaltskörper lösen sich auf, die Idioblasten leuchten zunächst noch weißblau, aber auch diese schwache Fluoreszenz erlischt bald. Beim Auflösen der Körper tritt keinerlei Farbentwicklung auf. Die Idioblasten färben sich mit Rhodamin B aber noch weinrot an.

 $\frac{n}{1}$ NaOH.

In Natronlauge lösen sich die Inhaltskörper innerhalb von 3 Minuten auf, auch die Blaufluoreszenz der Idioblasten erlischt.

NH3 konz.

In konzentriertem Ammoniak werden die Inhaltskörper zunächst schwach gelb. Nach einer halben Stunde ist nichts mehr von den Körpern zu sehen, auch die Blaufluoreszenz ist verschwunden. Die Hesperidin-

Sphärite färben sich dottergelb, lösen sich aber nicht auf.

Bei Schnitten von Scrophúlaria, die in den Epidermiszellen die bereits erwähnten Kugeln enthalten, entstehen in NH3 nach kurzer Zeit aus diesen Kugeln Sphärite. Vom Kugelmittelpunkt beginnen radial nach auswärts Kristallnadeln zu wachsen, die schließlich die ganze Kugel erfüllen. Lidforss (1898) beschreibt das Verschwinden der Potamogeton-Kugeln, die in wichtigen Punkten mit denen von Scrophularia übereinstimmen sollen, in NH3 und ihr Wiederauftreten nach Eintragen des Schnittes in reines Wasser.

Nach 24 Stunden erscheinen die Idioblasten von Scrophularia alata zart grünblau im UV-Licht und färben sich mit Rhodamin B weinrot. Nach 48 Stunden ist in Schnitten von Scrophularia nodosa im UV-Licht nichts mehr von den Idioblasten zu sehen. In Rhodamin B färbt sich nichts mehr an

Jodjodkali (JKJ)

Jodjodkali färbt Idioblasten und Inhaltskörper von Scrophularia nodosa dottergelb bis braungelb, oft auch rotbraun. Dies scheint einerseits mit der Länge der Färbezeit, vor allem aber mit der Konzentration des in der Vakuole gelösten Stoffes zusammenzuhängen. Anfangs erscheinen Idioblasten und Körper noch blau fluoreszierend. In dem Maße, in dem die Hellfeldfärbung zunimmt, erlischt aber die Fluoreszenz. Jod wirkt fluoreszenzlöschend. Während in den Epidermis- und Subepidermiszellen immer diffus an. Auch bei Scrophularia alata entstehen in den Epidermis- und Subepidermiszellen die kleinen Tröpfchen, die Idioblasten aber färben sich diffus. Bei Scrophularia vernalis färben sich alle Zellen diffus.

Die Inhaltskörper färben sich immer etwas stärker an als die Vakuolen. Auch die kleinen Idioblasten der jungen Pflänzchen, die erst kaum merklich fluoreszieren, färben sich mit JKJ an. Sowohl die blau fluoreszierenden Idioblasten der verschiedenen Verbascum-Arten als auch die von Celsia färben sich mit JKJ im gleichen Farbton an. Auch an Herbarexemplaren gelingt die Färbung in gleicher Weise. Die blauen Kugeln der Epidermis- und Subepidermiszellen färben sich ebenfalls braun. Sind sie so wie die Sterinoplasten aus einem Kern und einem ringförmigen Mantel aufgebaut, so färbt sich wie bei diesen der Kern wesentlich stärker

als der Mantel.

Jodtinktur.

Zu den Versuchen wurde die käufliche Jodtinktur etwas mit Wasser verdünnt. Mit dieser Lösung färben sich die Idioblasten noch viel stärker an als mit JKJ, sie hat nur den Nachteil, da sie ja alkoholisch ist, die Inhaltskörper aufzulösen. Es entstehen hier aber keine Kristalle, da ja die

Lösung viel zu wenig konzentriert ist. Wird ein Schnitt aus Alkohol mit Kristallbüscheln in Jodtinktur gebracht, so bleiben die Kristalle zunächst unverändert, die Idioblasten färben sich nicht an. Mit der Zeit lösen sich aber die Kristalle auf. Auch in Herbarexemplaren lassen sich die Idioblasten mit Jodtinktur rotbraun anfärben. Härtel, Kenda und Weber (1950) fanden für die Plasmal-Idioblasten von Verbascum Blattaria ebenfalls starke Färbbarkeit mit JKJ, hingegen soll Jodtinktur nicht färben. Leider standen mir keine frischen Exemplare von Verbascum Blattaria zur Verfügung; an Herbarexemplaren färben sich die Idioblasten der Kelch- und Blütentragblätter wunderschön rotbraun.

Chlorzinkjod.

Bei Scrophularia nodosa färben sich in Chlorzinkjod die Zellwände violett. Die Körper quellen zunächst auf, die Idioblasten färben sich gelb bis braun. Schließlich ist von den Körpern nichts mehr zu sehen, wobei nicht feststeht ob sie verquollen oder aufgelöst sind. Jegliche Fluoreszenz des Schnittes wird durch das Chlorzinkjod gelöscht. In Rhodamin B färben sich die Idioblasten weinrot an und fluoreszieren strahlend orangegelb. Von Inhaltskörpern ist allerdings nichts mehr zu sehen. Auch bei Scrophularia alata färben sich die Membranen violett, die Idioblasten aber gelb bis braun.

Cuoxam.

In Kupferoxydammoniak lösen sich die Körper zunächst nicht auf. Sie erscheinen im Hellfeld grünlich und ihre Spiralstreifung ist deutlich zu sehen. In den Idioblasten entsteht neben den Inhaltskörpern ein dichter feinkörniger Niederschlag. Im UV-Licht erscheint der ganze Schnitt grünblau, von Idioblasten und Körpern ist nichts zu sehen.
Nach 45 Minuten sind aber die Idioblasten leer, von Körpern und

Niederschlag ist nichts mehr zu sehen. Bei Scrophularia alata wurde der

feinkörnige Niederschlag in den Idioblasten niemals gesehen.

Fehling.

Ein Stengelquerschnitt wurde in einem Tropfen Fehling I + II auf dem Objektträger bis zum Aufkochen erhitzt. Der Idioblasteninhalt sieht schmutziggraubraun aus und färbt sich mit Rhodamin B weinrot an. Beim Durchsaugen von Alkohol durch das Präparat löst sich die Farbe in Wolken heraus. Der entfärbte Idioblast gibt mit JKJ keine Färbung.

α - Naphthol + H₂SO₄.

Auch in α-Naphthol und Schwefelsäure tritt keinerlei Färbung in den Idioblasten auf.

K₂Cr₂O₇.

den Epidermis- und Subepidermiszellen des Stengels von Scrophularia nodosa entstehen in Kaliumbichromat Tröpfchen verschiedener Größe, die gelb bis bräunlich gefärbt sind. In den Epidermiszellen entstehen auch zarte Myelinfiguren. Der Schnitt bietet unmittelbar nach dem Einlegen ein schönes Bild. In den Zellen tritt Plasmolyse ein, die Vakuolen leuchten weiß, während der Raum zwischen Protonlast und Zellwand vom gelben K₂Cr₂O₇ erfüllt ist. Erst später entstehen die obenerwähnten Tropfen in den Vakuolen. In den Idioblasten tritt keinerlei Tropfen- oder Niederschlagsbildung auf. Die Inhaltskörper verändern sich zunächst nicht, selbst nach 3 Stunden sind sie noch unverändert. Nach 24 Stunden ist allerdings nichts mehr von ihnen zu sehen. Im UV-Licht erscheint jegliche Fluoreszenz gelöscht.

Schnitte von Scrophularia alata, die 24 Stunden lang in K₂Cr₂O₇ lagen, boten ein schönes Beispiel für das unterschiedliche Verhalten von Epidermis, Subepidermis und darunterliegendem Parenchym. Die Epidermiszellen waren diffus gelb gefärbt, während in den Subepidermiszellen, deren Vakuolen ungefärbt erschienen, große braune Kugeln wie zu einer Perlenschnur gereiht lagen. Im Parenchym waren die meisten Vakuolen hellgelb gefärbt und enthielten kleine gelbe Tröpfchen.

FeCl₃.

Coffein.

Weder in $FeCl_3$ noch in Coffein entsteht ein Niederschlag oder eine Färbung in den Idioblasten.

Sudan III.

In Sudan III ist nach kurzer Zeit nichts mehr von den Inhaltskörpern zu sehen. Auch die blaue Fluoreszenz ist verschwunden. Da Sudan III das Gemisch einer alkoholischen Lösung des Farbstoffes mit Glyzerin darstellt, ist dies aber leicht erklärlich. Alkohol und Glyzerin lösen die Körper auf, der Alkohol löst außerdem den Inhalt der Vakuole, bewirkt somit das Verschwinden der Blaufluoreszenz.

AP-Sudan nach Czapek.

Im Czapekschen AP-Sudan ist der Farbstoff nicht in Alkohol und Glyzerin, sondern in Amylenhydrat, Pyridin und destilliertem Wasser gelöst. Aber auch Pyridin löst ja die Körper und bringt die Fluoreszenz zum Schwinden. In Stengelschnitten von Scrophularia nodosa, die 1 Stunde lang in AP-Sudan lagen und zur Beobachtung in Glyzerin eingelegt wurden, gibt es in allen Zellen mit Ausnahme der Idioblasten einen roten Tröpfchenniederschlag. In der Epidermis sind es ganz kleine Tröpfchen, in den Zellen der Subepidermis sind sie wesentlich größer. Auch in den Schließzellen und Haaren bilden sich die roten Tropfen. Die Idioblasten hingegen sind von zarten rotbraunen Flocken erfüllt, zwischen denen winzige dunkle Körnchen in lebhafter BMB wimmeln. Gerbstoffe liefern auch keinen roten Tröpfchenniederschlag, geben aber einen bräunlichroten amorphen Inhalt.

Alkannatinktur.

In Alkannatinktur färbt sich nichts an. Die Inhaltskörper lösen sich auf, und die blaue Fluoreszenz der Idioblasten verschwindet.

Osmiumsäure 1% ig.

In Osmiumsäure hebt sich der Protoplast der Idioblasten leicht konvex ab. Die Inhaltskörper verändern sich zunächst nicht, auch die Blaufluoreszenz bleibt erhalten. An einem Schnitt, der 12 Stunden in Osmiumsäure lag, fallen die zahlreichen kleinen, grauschwarzen Tröpfchen in den Epidermis- und Subepidermiszellen auf. Die Tröpfchen liegen aber nicht einzeln, sie sind halb miteinander verschmolzen, so daß hieroglyphenartige Gebilde entstehen. Von den Körpern ist nichts mehr zu sehen, auch die Blaufluoreszenz ist verschwunden. Die Tropfen in älteren Stengelabschnitten färben sich mit Osmiumsäure grau bis schwarz.

Rutheniumrot.

In Rutheniumrot färben sich weder die Vakuolen der Idioblasten noch ihre Inhaltskörper an. Die Körper bleiben unverändert. Idioblasten und Körper fluoreszieren weiterhin blau.

p-Dimethylaminobenzaldehyd.

In den Stengelepidermiszellen von Scrophularia nodosa entsteht mit p-Dimethylaminobenzaldehyd ein Niederschlag aus winzigen Tröpfchen. In der Subepidermis ist fast nichts von einem Niederschlag zu sehen. Die Idioblasten bleiben stets niederschlagsfrei. Ihr Protoplast hebt sich von den Zellwänden in vielen konkaven Buchten ab. Die Inhaltskörper sind zunächst noch erhalten. Nach einer halben Stunde ist aber nichts mehr von ihnen zu sehen, der Protoplast hat sich stark verkleinert und liegt, allseits von der Wand abgehoben, in der Zellmitte. In den Epidermis- und Subepidermiszellen ist der Protoplast nur ganz wenig kleiner als die Zelle. Im Schnitt ist keinerlei Anfärbung zu sehen, auch jegliche Fluoreszenz ist verschwunden.

Diphenylamin + H₂SO₄.

Die Idioblasten färben sich rosagelb, ihre Inhaltskörper lösen sich auf. Im Schnitt fallen kleine Gipsnädelchen aus. Nach einigen Minuten ist die Umgebung jedes einzelnen Idioblasten rosagelb gefärbt. Nach einiger Zeit erscheint dann der ganze Schnitt zart rosagelb, die einzelnen Zellumrisse sind nur mehr schwer wahrnehmbar. Von den Idioblasten und ihren Inhaltskörpern ist nichts mehr zu sehen.

Millons Reagens.

In Millonschem Reagens lösen sich die Körper auf. Es tritt keinerlei Färbung ein.

Phenylhydrazin (Aldehydnachweis nach Lidforss).

Die Inhaltskörper lösen sich in der Lösung sofort auf, was leicht erklärlich ist, da sich in der Lösung auch Essigsäure befindet. Es entsteht aber keinerlei Niederschlag in den Idioblasten. In Alkohol entstehen nachher keine Kristalle mehr.

Digitonin, Digitalin.

In beiden alkoholischen Lösungen lösen sich die Inhaltskörper sofort auf. Es entsteht keinerlei Niederschlag in den Idioblasten.

Chinin.

Es wurde eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung von Chinin in Leitungswasser verwendet. In den Epidermiszellen und in den Subepidermiszellen entstehen zunächst kleine Tröpfchen, die lebhaft in BMB wimmeln. Später fließen sie zu Hieroglyphen zusammen, in manchen Fällen auch zu großen Tropfen. Sie fluoreszieren leicht gelblichgrün. An Idioblasten und Inhaltskörpern ändert sich nichts. Auch nach 8 Stunden sind sie völlig unverändert. Von kleinen Tropfen und Hieroglyphen ist nichts mehr zu sehen, sie sind alle zu großen Tropfen zusammengeflossen.

Cadmiumchlorid.

Auch in Cadmiumchlorid bleiben Idioblasten und Körper unverändert. Es treten keinerlei Fällungen auf.

Schiffsches Reagens.

Die zu den Versuchen verwendeten Lösungen wurden nach dem

Rezept von Graumann (1953) hergestellt.

Stengelschnitte von Scrophularia nodosa, die eine halbe Stunde lang im Reagens lagen, zeigen in den Idioblasten noch Reste der Inhaltskörper, aber keinerlei Anfärbung. Nach einer Stunde ist von den Körpern nichts mehr zu sehen. Die Idioblasten sind noch immer ungefärbt, nur der Zellinhalt der kurzgestielten Köpfchenhaare ist schwach, die Haarbasis stark violett gefärbt.

Bei Scrophularia alata findet im Schiffschen Reagens ebenfalls keinerlei Anfärbung der Idioblasten statt. Auch hier färben sich nur die

Haare, und zwar besonders ihre Basis, violettrot an.

Die Versuche wurden oftmals wiederholt. Immer wieder zeigte sich, daß in frisch bereiteten, farblosen Lösungen keinerlei Anfärbung der Idioblasten oder ihrer Inhaltskörper erfolgt. In einer 2 Wochen alten Lösung, die trotz Aufbewahrung in einer Glasstöpselflasche eine leichte rosa Färbung aufwies, färbten sich die Idioblasten, vor allem aber die Inhaltskörper, violettrot an. Anscheinend können sie die geringen Farbstoffmengen aus der Lösung speichern. Im UV-Licht erscheinen die Idioblasten dann violettrosa, die Inhaltskörper bläulich. Nach 2 Stunden ist auch in diesen Lösungen nichts mehr von den Körpern zu sehen. Auch die Idioblasten von Scrophularia alata färben sich mit dieser Lösung schön violettrot an.

Härtel, Kenda und Weber (1950) berichten, daß sich die Idioblasten in den Kelchblättern von Verbascum Blattaria mit Schiffschem Aldehydreagens ohne vorherige Hydrolyse in kurzer Zeit, oft momentan intensiv violett färben. Mir standen leider keine lebenden Pflanzen zur Verfügung. Der Versuch einer Anfärbung am Herbarmaterial verlief negativ, obwohl die Färbung mit JKJ oder Rhodamin B wie am frischen Material gelang. Lison (1953) spricht allerdings von Plasmal als einem sehr labilen Körper, der nach Fixierung sehr schnell verschwindet. Sein Nachweis müsse stets in frischem Material geführt werden, um richtige Resultate zu ergeben.

Verdauungsversuche mit eiweißlösenden Fermenten. Pepsin.

Stengel-Flächenschnitte von Scrophularia nodosa wurden in eine 1%ige Lösung von Pepsin in 0,01% HCl eingelegt. Nach 2 Stunden ist von den Tropfen in Epidermis- und Subepidermis nichts mehr zu sehen. Die Körper erscheinen nur ganz dünn und schattenhaft. Weder Idioblasten noch Inhaltskörper fluoreszieren noch blau. Nach 24 Stunden ist keine Spur von Inhaltskörpern mehr zu sehen. Aber auch im Kontrollschnitt, der in einer 0,01%igen HCl lag, gibt es keine Inhaltskörper mehr. Versuche mit Pufferreihen (siehe unten) zeigten, daß die Körper in saurem Milieu verschwinden, in unserem Fall also nicht das Pepsin, sondern die saure Reaktion der Lösung wirksam war.

Trypsin.

Trypsin entfaltet seine Tätigkeit im Gegensatz zu Pepsin in schwach alkalischem Milieu. Es wurde zu den Versuchen eine 1%ige Lösung von Trypsin in 0,01% Natriumcarbonat verwendet. Hier ist selbst nach 48 Stunden keinerlei Veränderung an den Inhaltskörpern wahrnehmbar.

Versuche mit Pufferreihen.

Um Resistenzgrenzen für die Inhaltskörper festzustellen, wurden Schnitte in Pufferlösungen von verschiedenem p_n-Wert gebracht. Zur Pufferung wurden Mischlösungen aus n/10 HCl und m/15 primärem K-Phosphat einerseits und aus m/15 primärem K-

Phosphat und m/15 tertiärem Na-Phosphat andererseits verwendet (Strugger 1938). Im alkalischen Bereich sind die Korrekturwerte von Kinzel (1954) angeführt.

Die Schnitte wurden zunächst nach einer Stunde Aufenthalt in den Puffergemischen untersucht. Anschließend kamen sie wieder zurück in die Fläschchen, um nach 18 Stunden nochmals durchmustert zu werden.

 $p_{\rm H}$ 2,1.

Im Schnitt ist nichts mehr von blau fluoreszierenden Idioblasten oder Körpern zu sehen. Nach 18 Stunden erscheinen im UV-Licht die Membranen des toten Schnittes blau, die Haare und besonders ihre Basalringe leuchten eisblau. Die Chloroplasten in den Parenchym- und Subepidermiszellen leuchten nur mehr schwach gelbrosa, die der Schließzellen hingegen noch blutrot.

 $p_{\rm H}$ 2,38.

Die Schnitte bieten das gleiche Bild wie in p_H 2,1. Die Idioblasten färben sich mit JKJ nicht mehr an, im Alkohol entstehen keine Kristalle.

р_н 3,1.

Zunächst erscheinen die Idioblasten noch ganz schwach blau fluoreszierend, auch die Inhaltskörper sind noch vorhanden. Nach 18 Stunden aber ist von einer Blaufluoreszenz nichts mehr zu sehen, auch die Körper sind verschwunden. Mit JKJ findet keinerlei Anfärbung statt. Im Alkohol entstehen keine Kristalle in den Idioblasten.

рн 4,8.

Die Schnitte bieten das normale Bild, auch nach 18 Stunden ist keine Veränderung eingetreten. Idioblasten und Inhaltskörper färben sich mit JKJ gelb bis braun, im Alkohol entstehen die Kristallnadelbüschel.

 $\begin{array}{c} \mathbf{p_H} \, \mathbf{6.4,} \\ \mathbf{p_H} \, \mathbf{7.1,} \\ \mathbf{p_H} \, \mathbf{8.3.} \end{array} \right\} \quad \text{Gleiche Ergebnisse wie bei } \mathbf{p_H} \, \mathbf{4.8.}$

 p_{H} 10,1.

Zunächst fluoreszieren Idioblasten und Inhaltskörper strahlend blau. Nach 18 Stunden erscheinen die Idioblasten etwas matter blau, ihre Inhaltskörper fluoreszieren weiterhin sehr stark. In den Randpartien des Schnittes sind einige Zellreihen breit in den Subepidermiszellen zahlreiche Entmischungstropfen entstan-

den, die gelbrosa fluoreszieren. Hier im alkalischen Milieu gelang die Färbung mit JKJ nicht.

	Idiob	lasten	Inhaltskörper			
ри	1 Stunde	18 Stunden	1 Stunde	18 Stunden		
2,1	_	_	_	_		
2,38	_	_	_	_		
3,1	schwach blau	_	blau	_		
4,8	strahlend blau	strahlend blau	strahlend blau	strahlend blau		
6,4	strahlend blau	strahlend blau	strahlend blau	strahlend blau		
7,1	strahlend blau	strahlend blau	strahlend blau	strahlend blau		
8,3	strahlend blau	strahlend blau	strahlend blau	strahlend blau		
10,7	strahlend blau	schwach blau	strahlend blau	strahlend blau		

Neutralrot.

Stengelschnitte von Scrophularia nodosa, die 10 Minuten in einer 1:10.000-Neutralrotlösung in LW lagen, zeigen folgendes Bild: Die Epidermiszellen sind zart violettrot gefärbt und enthalten viele schöne rubinrote Entmischungstropfen. Die Idioblasten sind stärker und stets diffus gefärbt und zeigen niemals Entmischungstropfen. Im UV-Licht leuchten sie gelb bis gelbrosa, die Inhaltskörper rein gelb. Wird dieser Schnitt nun in destilliertes Wasser übertragen, so tritt die bekannte Umfärbung ein. Die Membranen färben sich kräftig rot, die Epidermiszellen erscheinen ungefärbt, nur mehr vereinzelt enthalten sie noch Entmischungs-

kugeln. Die Idioblasten leuchten im UV-Licht nur mehr schwach gelblich, die Inhaltskörper aber leuchten jetzt grellgelb. Im Hellfeld ist keinerlei Färbung der Körper mehr zu erkennen. Auch in Stengelschnitten von Scrophularia alata färben sich in Neutralrot LW die Vakuolen der Epidermiszellen violettrot mit zahlreichen rubinroten Entmischungskugeln. Die Parenchymzellen, die zahlreiche Entmischungskugeln besitzen, zeigen fast keine Anfärbung des Zellsaftes. Die Idioblasten erscheinen im Hellfeld gelbrot und fluoreszieren gelborange. Ihre Plasmazwickel zeigen keinerlei Fluoreszenz. Die Epidermiszellen fluoreszieren dumpf rot.

Neutralrot ist ein basischer kathodischer Farbstoff, der von $p_{\rm H}$ 2 bis 6 kirschrote, über $p_{\rm H}$ 6 gelbrote, über $p_{\rm H}$ 7 hellgelbe Farbe hat. Die roten Lösungen fluoreszieren nicht, über $p_{\rm H}$ 7 aber fluoresziert Neutralrot in schöner goldgelber Farbe. Die Farbbasenmoleküle sind extrem lipophil und gehen sehr leicht in organische Lösungen über. Volle speicherstoffreiche Zellsäfte im Sinne Höflers (1947) färben sich violettrot, leere speicherstofffreie aber erdbeerrot (Wiesner 1951). Volle Zellsäfte fluoreszieren rot, wobei die Stärke des Aufleuchtens von der Intensität der Hellfeldfärbung weitgehend abhängig ist (Toth-Ziegler 1952). Leere Zellsäfte sind hingegen fluoreszenzfrei.

Bei Scrophularia färbten sich die Epidermiszellen violettrot und fluoreszierten schwach rot, die Idioblasten hingegen waren, obwohl sie im Akridinorange unter und über $p_{\rm H}\,6$ grün fluoreszieren, also volle Zellsäfte besitzen, gelbrot gefärbt und fluoreszierten gelb, die Inhaltskörper sogar intensiv grellgelb. Dies deutet wohl auf die Speicherung des Farbstoffes in lipoider Phase (S t r u g g e r 1941). Es fehlte auch hier die für leere erdbeerrote Vakuolen allgemein beobachtete Vakuolenkontraktion.

Rhodamin B.

In Rhodamin B 1:1000 färben sich die Idioblasten in kürzester Zeit wunderschön elektiv weinrot. Auch ihre Inhaltskörper färben sich an. Die Zellsäfte der Epidermis- und Subepidermiszellen erscheinen farblos oder ganz schwach gefärbt und enthalten zahlreiche kleine weinrote Entmischungströpfchen. Im UV-Licht leuchten alle Epidermiszellen, auch die im Hellfeld farblos erscheinenden, fahlgelb, die Idioblasten leuchten wesentlich stärker goldorange, besonders intensiv gelb aber fluoreszieren die Inhaltskörper. Sie sind im UV-Licht wesentlich besser zu sehen als im Hellfeld, wo Idioblasten und Körper gleich stark gefärbt erscheinen. — Auch die jungen, im UV-Licht noch kaum sichtbaren Idioblasten färben sich mit Rhodamin diffus weinrot an.

Bei Scrophularia alata und Scr. vernalis färben sich die Idioblasten ebenfalls diffus weinrot an, während Epidermis- und Subepidermiszellen schwach oder gar nicht gefärbt sind und zahlreiche Entmischungströpfchen enthalten. Die Idioblasten leuchten im UV-Licht kräftig goldgelb.

Die in älteren Stengelpartien in den Epidermiszellen vorkommenden Kugeln färben sich in Rhodamin B kaum merklich an und

fluoreszieren zart gelb.

Auch mit Rhodamin B gefärbte Inhaltskörper lösen sich unter der Einwirkung des UV-Lichtes auf. Die Zelle fluoresziert noch

kurze Zeit gelb, entfärbt sich aber bald gänzlich.

Rhodamin B ist ein sehr schwach dissoziierter Farbstoff, der praktisch als elektroneutral bezeichnet werden kann. Er ist der beste Vitalfarbstoff zur Anfärbung der lipoiden Anteile des Protoplasten. So speichert der lipoidreiche Zellsaft der Zwiebel-Außenepidermiszellen von Allium cepa den Farbstoff, während die lipoidarmen Vakuolen der Innenepidermis ungefärbt erscheinen. Die starke Diffusfärbung im Verein mit dem starken, goldgelben Leuchten im UV-Licht läßt auch hier auf das Vorhandensein großer Lipoidmengen in der Vakuole der Idioblasten schließen.

Methylenblau.

Nach einer Färbezeit von 10 Minuten in Methylenblau 1:10.000 in Leitungswasser sind die Zellmembranen gefärbt, in vereinzelten Idioblasten ist schwache Vakuolenfärbung wahrnehmbar. Die Inhaltskörper sind nicht gefärbt. Nach 25 Minuten aber sind alle Idioblasten diffus grünblau gefärbt und zeigen meist leichte Vakuolenkontraktion, wie dies bei Färbungen über $p_{\rm H}$ 11 der Fall ist. Die Epidermis- und Subepidermiszellen zeigen das gewohnte Bild, ihre Membranen sind stark blau gefärbt. Auch die Inhaltskörper sind blau.

Nach 24 Stunden Aufenthalt in einer feuchten Kammer (der Schnitt lag dabei unter Deckglas) bietet der Schnitt folgendes Bild: In den Epidermis- und Subepidermiszellen sind grünblaue Kugeln ausgefallen, die Vakuole erscheint ungefärbt. Die Idioblasten haben sich fast ganz entfärbt, sie sind nur mehr zart grünblau. Bei Zugabe einiger Tropfen 10% igen H₂O₂ färben sich die Idioblasten wieder dunkelblau, aber nicht mehr wie vor dem Entfärben grünblau, sondern rotviolettblau. Bald erscheint der Schnitt so dunkelblau, daß keine Einzelheiten mehr zu erkennen sind.

Chrysoidin.

Mit Chrysoidin färben sich Idioblasten und Inhaltskörper elektiv sattgelb an und fluoreszieren weiterhin strahlend blau. Bei

den übrigen Zellen des Schnittes erscheint das Plasma zartgelb gefärbt, die Vakuolen zeigen keine merkliche Anfärbung. Chrysoidin ist ein basischer Azofarbstoff, der besonders Lipoide stark anfärbt (Wulff 1934, Hofmeister 1948).

Bismarck braun.

In Bismarckbraun sind nach 5 Minuten Idioblasten und Körper braun gefärbt. Die Inhaltskörper erscheinen wesentlich stärker gefärbt als die Vakuole. Ihre Fluoreszenz erscheint gelöscht. Epidermis- und Subepidermiszellen färben sich auch an, zeigen aber mehr braunrosa Farbtöne. Die blauen Kugeln in den Subepidermiszellen der Frucht färben sich mit Bismarckbraun stark rotbraun, außerdem finden sich in den Zellen noch zahlreiche goldbraune Kügelchen. Die Hesperidinsphärite färben sich ebenfalls dunkelbraun. Im Alkohol entstehen auch in den gefärbten Schnitten die Kristallnadelbüschel. Auch Bismarckbraun ist wie Chrysoidin ein Azofarbstoff, der Lipoide anfärbt.

Janusgrün B.

Verwendet wurde eine Lösung 1 10.000 in destilliertem Wasser.

Nach 10 Minuten ist im Hellfeld noch keinerlei Färbung zu sehen, doch leuchten die Epidermiszellen in den Randpartien des Schnittes nicht mehr blau, sondern rosa. Idioblasten und Körper leuchten unverändert blau. Nach einer halben Stunde Färbezeit fluoreszieren alle Epidermiszellen karminrot, die Vakuolen der Idioblasten leuchten besonders schön. Die Inhaltskörper aber leuchten noch rein blau. Im Hellfeld erscheinen sowohl Idioblasten als auch Inhaltskörper vollkommen ungefärbt. Nach einer weiteren Stunde hat sich das Bild nicht verändert. Gefärbte Schnitte, die unter Deckglas 1 Stunde lang in einer feuchten Kammer lagen, haben noch immer karminrot leuchtende Idioblasten und blau fluoreszierende Körper, die im Hellfeld ungefärbt erscheinen. In den Subepidermiszellen liegen kleine blaue Farbtröpfehen, auch die Epidermiszellen erscheinen im Hellfeld ganz schwach diffus bläulich gefärbt.

Janusgrün B (Diazingrün), ebenfalls ein Azofarbstoff, der von Drawert (1953) zur vitalen Fluorochromierung der Mikrosomen empfohlen wird, ist über einen weiten p_H -Bereich lipoidlöslich und läßt sich sehr leicht reduzieren. Dabei treten 2 Stufen, eine rote und eine farblose, auf. Janusgrün ist in wäßriger Lösung, in hydrophoben Medien gelöst und im absorbierten Zustand fluoreszenzfrei. Die rote Reduktionsstufe, die die geringste Lipophilie zu besitzen scheint, fluoresziert nur im absorbierten Zustand mit rotem Farb-

ton, die stark lipoidlösliche, farblose Reduktionsstufe fluoresziert sowohl in H_2O als auch in hydrophoben Medien gelöst grüngelb. Über p_H 6 tritt nach D r a w e r t auch rote Zellsaftfluoreszenz auf, die oft parallel mit der Intensität der Rotfärbung im Hellfeld geht, aber nicht mit ihr in Zusammenhang stehen muß. Sie ist unabhängig von der O_2 -Spannung, Zugabe von H_2O_2 ruft keinerlei Änderung hervor.

Nilblausulfat.

Nach 10 Minuten Färbung in einer Lösung von 1:10.000 in destilliertem Wasser erscheinen die Idioblasten und ihre Inhaltskörper im Hellfeld ungefärbt. In den schwach blau gefärbten Epidermiszellen liegen kleine grünblaue Kugeln, in den Subepidermiszellen größere. Auch Wiesner (1951) beobachtete, daß Nilblausulfat zur Bildung von Entmischungskugeln besonders geeignet ist, und zwar nur in vollen, speicherstofführenden Zellsäften. Die Membranen der lebenden Zellen erscheinen ungefärbt, die der toten dunkelblau. Auch die Vakuolen der kleinen Haare färben sich zartblau mit zahlreichen blauen Entmischungskugeln. Im UV-Licht erscheinen die Idioblasten rosa, die Inhaltskörper aber meist noch reinblau. Die stark gefärbten Membranen der toten Zellen und die dunkelblauen Kugeln der Haare fluoreszieren nicht. Nach 45 Minuten Färbezeit erscheinen die Idioblasten stark grünblau gefärbt. Sie sind so stark gefärbt, daß nicht zu entscheiden ist, ob die darinliegenden Körper gar nicht oder gleich angefärbt sind. Die Zellsäfte der Parenchymzellen sind violettblau gefärbt und enthalten große grünblaue Entmischungskugeln. Die Chloroplasten sind nicht gefärbt. Im UV-Licht leuchten die Idioblasten satt karminrot, die Körper sind nicht zu sehen, dürften also im gleichen Farbton fluoreszieren. Nach Drawert (1952) wird Nilblau vor allem von den Vakuolen lebender Zellen mit blauvioletten, blauen bis grünen Farbtönen gespeichert, wobei keinerlei Fluoreszenz auftritt. Nach Wiesner (1951) speichern leere Zellsäfte mit blauen, volle aber mit grünen Farbtönen. Spek (1942) empfiehlt die Färbung mit dem basischen Farbstoff Nilblausulfat als Testfärbung für Lipoide in lebenden Pflanzenzellen. Lipoide färben sich nach Spek grünlichblau mit roter Fluoreszenz. Sehr leicht und stark färben sich Phosphatide mit dem blauen Farbsalz an, wobei im Lezithin die rote Fluoreszenz besonders stark ist.

Prune pure, Coriphosphin, Pyronin.

In Prune pure und Coriphosphin färben sich weder Idioblasten noch Inhaltskörper, sie fluoreszieren weiterhin strahlend blau. In Pyronin p_H 11 war wegen der blauen Eigenfluoreszenz der Vakuolen nicht zu sehen, ob eine Anfärbung stattgefunden hatte. Eosin.

Mit Eosin konnte keine Färbung der Idioblasten und Inhaltskörper erzielt werden, sie fluoreszieren weiterhin strahlend blau. Trypanblau.

Nach 2 Stunden Färbezeit erscheinen die Idioblasten von *Scrophularia alata* kräftig rotviolett bis rötlichblau gefärbt. Der Inhalt der toten Zellen des Schnittes hat sich zart reinblau gefärbt. Alles übrige erscheint ungefärbt.

Orange G, Kongorot.

In Orange G konnte auch nach längerer Färbezeit keinerlei Anfärbung an lebenden Zellen des Schnittes wahrgenommen werden. In Kongorot war zwar die Umgebung der Idioblasten oft rot gefärbt, die Idioblasten selbst aber zeigten keinerlei Anfärbung.

2,6 - Dichlorphenolindophenol (zur Bestimmung der Ascorbinsäure nach Tillmans) DPIP.

Bei den Versuchen wurden jeweils Schnitte von Scrophularia alata und Scr. nodosa in die Farblösungen eingelegt.

Nach 10 Minuten Färbezeit zeigen die Schnitte von Scrophularia alata schöne eisblaue Elektivfärbung der Idioblasten. In der Subepidermis entstehen große, gelblich schimmernde Tropfen. Auch bei Scr. nodosa sind die Zellsäfte der Idioblasten elektiv blau gefärbt, besonders kräftig eisblau erscheinen aber hier die Inhaltskörper.

Die Schnitte wurden unter Deckglas in einer feuchten Kammer belassen. Nach 10 Minuten ist die Färbung schon deutlich schwächer, nach 25 Minuten ist nichts mehr von der Färbung zu sehen. Es hat Reduktion des DPIP unter Luftabschluß stattgefunden. Werden diese völlig entfärbten Schnitte in $\rm H_2O_2$ (10% ig) gebracht, so kommt die Färbung zwar wieder, doch sind die Idioblasten nicht mehr blau, sondern rotviolett bis rot, nur die Inhaltskörper werden wieder eisblau. Die Tropfen in den Subepidermiszellen verändern sich nicht, in den Idioblasten entstehen niemals Entmischungstropfen.

Bei Schnitten, die 20 Minuten in der Farblösung lagen und stärker gefärbt sind, dauert auch das Entfärben länger.

Ein entfärbter Schnitt von Scr. alata wurde in Rhodamin B eingelegt. Die Idioblasten färben sich auch hier diffus weinrot. Auch die Entmischungstropfen in Epidermis und Subepidermis färben sich weinrot. In der Subepidermis liegen neben den großen roten auch zahlreiche winzige blaue Tröpfchen. Manche Zellen erscheinen ganz erfüllt davon. Das Ausblassen der blau gefärbten Idioblasten unter O₂-Abschluß hat Härtel (1951) an Verbascum Blattaria-Idioblasten auch beobachtet. Er nimmt an, daß es sich um eine Reduktion des Farbstoffes, die durch Sauerstoffverarmung verursacht wird, handelt (Asphyxie-Effekt). Mit der Abnahme des rH beim Übergang zur intramolekularen Atmung wird das DPIP als leicht reduzierbarer Farbstoff eben noch reduziert, gleichzeitig werden organische Säuren gebildet. Diese Säuren verursachen dann bei der Rückoxydation des Farbstoffes den Farbumschlag nach Rot. Das p_H im Inneren des Idioblasten nimmt Härtel demnach knapp über dem Umschlagspunkt des DPIP, also um etwa p_H 6 an. Auch lassen nach Härtels Meinung diese Versuche auf das Vorhandensein gewisser, wenn auch vielleicht träge verlaufender Stoffwechselvorgänge innerhalb der Idioblasten schließen. Ähnliche Ergebnisse brachten ja auch die Versuche mit Methylenblau. Dieser Farbstoff (rH 13,5—15,5), der schwerer reduzierbar ist als DPIP (rH 20-22,5), entfärbt sich nicht mehr ganz. ein schwacher blauer Schimmer ist noch immer wahrnehmbar. Auch hier entsteht die Färbung wieder und ist dann nicht mehr blau, sondern rotviolett. Dabei kann es sich aber nicht, wie von Härtel für DPIP angenommen, um einen Farbumschlag, hervorgerufen durch Säurebildung in der Zelle, handeln, da bei Methylenblau im sauren Bereich kein Umschlag nach Rot stattfindet. Es kann sich wohl nur um eine Änderung der Zellsaftkolloide handeln, die in der Rotviolettfärbung des Methylenblaus zum Ausdruck kommt.

Gentian aviolett.

Nach 5 Minuten Färbezeit ist der Schnitt blau gefärbt. Besonders stark gefärbt erscheinen die Idioblasten. Im UV-Licht erscheinen ihre Zellsäfte nicht mehr blau, sondern rosa, die Inhaltskörper sind noch immer reinblau fluoreszierend. Gentianaviolett gilt als Farbstoff, der speziell durch Lezithine gebunden wird.

Akridinorange.

Zu den Versuchen wurden Farbbadreihen gestufter p_H -Intensität verwendet. Auch hier sind die korrigierten p_H -Werte der Farblösungen 1:10.000 nach K i n z e l (1954) angegeben.

Die Schnitte wurden nach 15 Minuten aus dem Farbbad genommen und beobachtet. Anschließend kamen sie in die gleichnamigen Pufferlösungen und wurden nach 3 und 24 Stunden erneut durchmustert.

p_H 2,12

Nach 15 Minuten fluoreszieren die Membranen zartgrün, die Basalringe der Haare kräftig grün. Von blauen Idioblasten und Körpern ist nichts mehr zu sehen. Der Schnitt ist tot.

pH 3,1.

Die Idioblasten fluoreszieren z. T. blau, z. T. gelbgrün. Von den Inhaltskörpern ist nichts mehr zu sehen. Nach 3 Stunden ist auch von der Fluoreszenz der Idioblasten nichts mehr zu sehen.

p_H 4,6.

Alle Membranen sind kupferrot, die Vakuolen der Epidermiszellen sind grün. Die Membranen der Haare fluoreszieren gelb, ihre Vakuolen grün. Die Vakuolen der Idioblasten sind blaugrün, ganz vereinzelt auch schon grellgrün, nur mehr wenige sind reinblau. Die Inhaltskörper fluoreszieren noch alle strahlend blau. Nach 3 Stunden sind sämtliche Idioblasten gleißend grün, ihre Inhaltskörper aber noch immer reinblau. Alle Membranen fluoreszieren nur mehr zartgelbrot. In den Epidermiszellen gibt es zahlreiche kleine orangefarbige Tröpfchen, die zu einem Klumpen geballt in der Vakuole liegen. Nach 24 Stunden liegen in diesen Klumpen auch noch orangefarbige Kristallnadeln. Sämtliche Inhaltskörper fluoreszieren jetzt smaragdgrün.

p_H 6,4.

Die Membranen des Schnittes sind nicht gefärbt, die Vakuolen der Epidermiszellen fluoreszieren leuchtend grün. Die Idioblasten sind blaugrün, zum Teil bereits grellgrün, zum Teil aber noch reinblau. Die Inhaltskörper fluoreszieren alle noch reinblau. Oft leuchten im toten entfärbten Schnitteil nur noch die Idioblasten gleißend grün. Ihre Inhaltskörper sind aber auch noch reinblau. Nach 3 Stunden leuchten alle Idioblasten gleißend grün, ihre Inhaltskörper aber noch blau. Erst nach 24 Stunden sind auch sie grün. In den grünen Vakuolen der Epidermiszellen gibt es wieder zahlreiche orangegelbe Tröpfchen.

p_H 8,2.

Die Vakuolen der Epidermiszellen fluoreszieren grellgrün, ihre Membranen sind farblos. Die Basalringe der Haare leuchten orangegelb. Die meisten Idioblasten sind blaugrün bis gleißend grün, nur mehr wenige sind noch reinblau. Die Inhaltskörper sind noch nicht gefärbt, sie leuchten blau. In den mattgrünen Vakuolen der Subepidermis gibt es zahlreiche große orangerote Tropfen. Ihre Membranen sind ebenfalls farblos. Nach 3 Stunden bietet der Schnitt das gleiche Bild, nur sind jetzt alle Idioblasten gleißend grün. Um die noch immer blau leuchtenden Inhaltskörper scheint es eine grellgrün fluoreszierende "Haut" zu geben. Nach 24 Stunden sind auch die Inhaltskörper grellgrün und leuchten stärker als die Vakuolen.

p_H 10,5.

Auch hier sind die Idioblasten meist blaugrün, zum Teil aber auch schon grellgrün. Ein verschwindend kleiner Teil ist noch reinblau. Die Körper hingegen sind noch alle reinblau. Die Epidermiszellen leuchten grün, die Randzellen sind mattrot; in ihnen liegen große, gleißend kupferrot fluoreszierende Kugeln. Nach 3 Stunden erscheinen die Epidermiszellen mehr rotgrün als gelbgrün. In den Randzellen gibt es noch immer die grell leuchtenden Kugeln. Die Idioblasten sind jetzt alle gleißend grün, ihre

Körper aber noch durchwegs blau. Nach 24 Stunden sind auch hier die Inhaltskörper leuchtend smaragdgrün. Sie fluoreszieren im gleichen Farbton und der gleichen Intensität wie die smaragdgrünen Klümpchen, die im Plasma von Allium cepa bei Färbungen mit Akridinorange über pH 6,4 (siehe Höfler, Toth, Luhan 1949) auftreten.

Interessant ist, daß sich zunächst die Vakuolen der Epidermiszellen stark grün anfärben, während die Mehrzahl der Idioblasten erst blaugrüne, zum Teil sogar noch reinblaue Vakuolen hat. Nach 3 Stunden Verweilen der Schnitte in den Pufferlösungen haben die Idioblasten ihrer Umgebung Farbstoff entnommen und leuchten gleißend grün. Die Inhaltskörper sind zu dieser Zeit noch nicht gefärbt; sie fluoreszieren erst nach 24 Stunden Aufenthalt in der Pufferlösung grün, dann allerdings leuchten sie stärker als alles andere im Schnitt.

Uranin (Natriumfluoreszein).

Stengelschnitte von Scrophularia nodosa boten nach 5 Minuten Aufenthalt in einem Farbbad von Uranin 1:2000 in LW. folgendes Bild: Die meisten Idioblasten haben mattgrün leuchtende Vakuolen, in denen die jetzt grellgelbgrün fluoreszierenden Inhaltskörper liegen. Einzelne Idioblasten und Körper sind allerdings noch unverändert blau, wobei oft blaue unmittelbar neben grünen liegen. Der Schnitt wurde 48 Stunden unter Deckglas in feuchter Kammer belassen. Nach dieser Zeit waren sämtliche Idioblasten und Inhaltskörper wieder blau fluoreszierend, von Grün war im ganzen Schnitt nichts mehr zu sehen. Auch in einer Lösung von Uranin 1:1000 in destilliertem Wasser leuchten nach 10 Minuten Färbezeit die meisten Idioblasten mattgrün, ihre Inhaltskörper grellgrün. Mehrere Idioblasten sind aber noch blau und haben blaue Inhaltskörper. Epidermis- und Subepidermiszellen haben Plasma und Zellkerne grün gefärbt (Taf. 3, Abb. 19). Nach 48 Stunden Aufenthalt unter Deckglas in feuchter Kammer war auch an diesem Schnitt nichts Grünes mehr zu sehen.

Auch Stengelschnitte von Scrophularia alata kamen in ein Farbbad von 1:1000 Uranin p_H 4,8. Nach 3 Minuten sind die meisten Idioblastenvakuolen noch blau, ihre Plasmazwickel aber leuchtend grün. Überall im Schnitt ist grüne Plasma- und Kernfärbung zu sehen. Die Vakuolen erscheinen ungefärbt. Vereinzelte Idioblasten leuchten grellgrün, hier sind allerdings die Plasmazwickel nicht gefärbt. Nach 10 Minuten Färbezeit fluoreszieren viele Idioblasten grellgrün, bei den übrigen Zellen leuchten nur Plasma und Zellkern grün. Die Zellsäfte der Epidermis- und Subepidermiszellen fluoreszieren mattblau. Im Hellfeld leuchten die

A. O.	I	Idioblasten			Inhaltskörper		Epidermiszellen		Membranen			
рн	15 ′	3 h	24 h	15 ′	3 h	24 h	15 ′	3 h	24 h	15 ′	3 h	24 h
2,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	grün		blau
3,1	teils blau teils grün	+	+	+	+	+						
4,6	blau- grün grell- grün	gleißend grün	gleißend grün	blau	blau	gleißend grün	grün	grün mit orange Tröpfchen	grün mit orange Tröpfchen	kupfer- rot	zart- gelbrot	
6,4	blau- grün grell- grün	gleißend grün	gleißend g rü n	blau	blau	gleißend grün	grün	grün	grün	farblos		
8,2	blau- grün grell- grün	gleißend grün	gleißend gr ü n	blau	blau	gleißend grün	grün	grün	grün	farblos		
10,5	blau- grün greil- grün	gleißend grün	gleißend grün viele Zellen	blau	blau	gleißend grün	grün	grün	grün	farblos		

grün fluoreszierenden Idioblasten nicht mehr aus dem Schnitt heraus. Die Schnitte wurden im farblosen, gleichnamigen Puffer aufbewahrt. Nach 48 Stunden waren die Vakuolen aller Epidermiszellen leuchtend grün, die Idioblasten fluoreszierten blau, ihre Plasmazwickel erschienen farblos.

Döring, der 1935 die Wirkung des Farbstoffes eingehend studierte, fand, daß sich bei Allium cepa in den Zellen der Schuppen-Innenepidermis zunächst Plasma und Kerne anfärben. Nach einiger Zeit tritt Umstimmung ein, Plasma und Kern erscheinen farblos, die Vakuole ist gefärbt. Dabei ist oft die Vakuolenfluoreszenz der umgestimmten Zellen schwerer zu sehen als die Fluoreszenz des Plasmas und der Kerne in den frisch gefärbten. Döring bringt dies mit dem Säuregrad des Zellsaftes in Zusammenhang, da er zeigen konnte, daß sich die Vakuolenfluoreszenz durch Zugabe einer verdünnten Alkalilauge wesentlich verstärken ließ. Er sah auch, daß entsprechend der Betheschen Regel Allium cepa aus saurer Lösung Farbstoff speichert, aus alkalischer hingegen nicht. Doch konnte er mit verhältnismäßig starken Lösungen (1:1000) noch bei pH8 merkliche Plasmafluoreszenz erzielen. Döring fand die Umstimmung weitgehend unabhängig von der Konzentration der Lösung, er nahm an, daß weniger der Farbstoff als das Lösungsmittel bedeutsam ist. So trat bei seinen Versuchen bei in aqua dest. gewässerten Schnitten die Umfärbung früher ein als bei ungewässerten. Nach Wässerung in Leitungswasser ging die Umstimmung sozusagen sogar vollständig vor sich; hier trat in Uranin überhaupt keine Plasmafärbung mehr auf, es war lediglich nach einigen Stunden die ansteigende Vakuolenfluoreszenz zu sehen. Bei Pelargonium-Stengelschnitten, die mit Leitungswasser abgespült und einige Minuten gewässert waren, trat sofort Vakuolenfärbung ein.

Interessant war das Verhalten von gequollenem Plasma. Dieses speicherte den Farbstoff besonders intensiv, wobei es belanglos schien, auf welche Art die Quellung zustande gekommen war. Dies ist anscheinend auch der Grund dafür, daß sich bei Scrophularia alata zuerst die Plasmazwickel färben, wobei die Umstimmung allerdings auch bald stattfindet (bei Dörings Versuchen an Allium cepa unterblieb sie vollkommen), während bei Scrophularia nodosa sofort die Vakuolen und ihre Inhaltskörper gefärbt erscheinen. Bei den übrigen Zellen des Schnittes tritt in beiden Fällen zunächst Plasma- und Kernfärbung auf, die aber niemals die Intensität der Färbung in den Plasmazwickeln bei Scrophularia alata erreicht. Bei Scrophularia alata waren nach 48 Stunden alle Vakuolen, mit Ausnahme der Idioblastenvakuolen, grün fluoreszierend. Plasma und Kerne erschienen farblos. Bei Scrophularia nodosa war nach dieser Zeit vom Farbstoff in der Fluoreszenz nichts mehr zu sehen, wobei Nichtfluoreszenz nicht unbedingt gleichbedeutend mit Abwesenheit des Farbstoffes sein muß. Allerdings waren hier die Schnitte unter Deckglas, also O2-Abschluß, in der feuchten Kammer gelegen, während die Schnitte von Scrophularia alata in einem Fläschchen mit Pufferlösung aufbewahrt

wurden. Die Vakuolenfärbung der Idioblasten trat bei Scrophularia nodosa sowohl im sauren als auch im leicht alkalischen Milieu sofort ein. Plasma- und Kernfärbung zeigte sich allerdings nur in den sauren Farbstofflösungen.

C. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Härtel, Kenda und Weber (1950) kommen bei den Untersuchungen der Idioblasten im Kelchblatt von Verbascum Blattaria auf Grund ihrer Versuchsergebnisse zu dem Schluß, daß es sich bei dem Vakuoleninhalt um Lipoide, und zwar um Phospholipoide, handelt. Biedermann (1920), der in den Epidermiszellen von Monotropa fettähnliche Substanzen feststellte, glaubte, der ganze Zellinhalt bestehe aus einer Mischung von Plasma und fettähnlichen Substanzen, sozusagen einem Lipoplasma. Weber (1932) konnte hingegen zeigen, daß doch ein, wenn auch sehr dünner, Plasmawandbelag in den Zellen vorhanden ist und der voluminöse "Zellsaft" eine auffallend zähe, leicht gelbliche Masse mit einer für Lipoide charakteristischen Lichtbrechung darstellt, die Zellvakuole also offenbar zur Gänze aus einem Lipoid- (Phosphatid-) Sol besteht. Einen ähnlichen Zustand nehmen nun Härtel, Kenda und Weber (1950) für die Idioblasten von Verbascum Blattaria an. Da sich die Idioblasten mit dem Schiffschen Aldehydreagens ohne Vorbehandlung rasch violett färben, nehmen sie das Acetalphosphatid Plasmal als Inhaltsstoff an und sprechen von "Plasmal-Idioblasten". Die Reaktion fiel aber nicht immer positiv und nicht immer gleich schnell und stark aus, junge Kelchblatt-Idioblasten wie auch die Idioblasten der Stengelblätter gaben sie niemals. Doch haben alle Idioblasten volle Zellsäfte im Sinne Höflers (1947). Plasmal kann also kaum die Ursache für diese vollen Zellsäfte sein, höchstens es erwiese sich hinsichtlich seiner Affinität zu Farbstoffen in so geringen Mengen bereits wirksam, auf die das Aldehydreagens noch nicht anspricht (Härtel 1952). Ich halte es nach meinen zahlreichen vergleichenden Untersuchungen an verschiedenen Scrophulariaceen, die blau fluoreszierende Idioblasten besitzen, für wahrscheinlicher, daß der volle Charakter ihrer Zellsäfte auf dem Vorhandensein bestimmter Stoffe beruht, die in allen Idioblasten, wenn auch nicht überall in gleicher Menge, vorkommen. Dabei können in verschiedenen Idioblasten noch zusätzlich Stoffe vorhanden sein, wie z. B. das Plasmal in den Kelchblatt-Idioblasten von Verbascum Blattaria oder der Stoff, der zur Ausfällung der Inhaltskörper in den Stengel-Idioblasten bei Scrophularia nodosa führt. Bei der Grundmasse des Vakuolen-

inhaltes der näher untersuchten Idioblasten von Scrophularia nodosa und alata handelt es sich hauptsächlich um Stoffe lipoider Natur. So weisen die starke elektive Färbung mit Chrysoidin und Bismarckbraun auf Lösung des Farbstoffes in Lipoiden. Auch die gelbrote Färbung mit Neutralrot im Verein mit der gelben Fluoreszenz sowie die starke Diffusfärbung mit Rhodamin B, die ebenfalls mit einer starken Gelbfluoreszenz verbunden ist, deuten auf Speicherung des Farbstoffes in lipoider Phase. Winterstein (1931) weist auf die Begriffsverwirrung hin, die bezüglich der Bezeichnung "Lipoide" herrscht. Der Begriff wurde um die Jahrhundertwende von Kletzinsky für den unverseifbaren Anteil des Äther- und Alkoholextraktes tierischen Gewebes geprägt. Over ton versteht unter Lipoiden die in tierischen und pflanzlichen Zellen vorkommenden fettähnlichen, in organischen Lösungsmitteln, wie Äther, Chloroform usw., löslichen Substanzen. Seither wurde der Begriff Lipoid so häufig umdefiniert, manche Autoren faßten ihn weiter, manche enger als O v e r t o n, daß es oft schwer fällt, zu erkennen, was unter dem Begriff gemeint ist. Leathes und Raper (1925) betrachten die Bezeichnung Lipoid als einen Mantel für Unwissenheit: "lipoide, which is at once a cloak for ignorance and an indefinable limbo into which any one can thrust anything of which he knows little or nothing." Im Jahre 1925 wurde die Bezeichnung "Lipide" durch "The Committee on the Reform of the Nomenclature of Biological Chemistry" am internationalen Chemikerkongreß in Cambridge vorgeschlagen und eingeführt. Nach Bloor (1925) versteht man unter Lipiden wasserunlösliche, äther- oder alkohollösliche Substanzen, die entweder Ester von Fettsäuren darstellen oder mit Fettsäuren Ester bilden können. Seine Klassifikation der Lipide sieht folgendermaßen aus:

- 1. Einfache Lipide. Darunter versteht er Ester von Fettsäuren mit verschiedenen Alkoholen. Hierher gehören Fette und Wachse.
- 2. Zusammengesetzte Lipide. Es sind dies Ester von Fettsäuren mit Alkoholen in Verbindung mit einer weiteren Komponente. Hierher gehören Phospholipide (Lecithin, Kephalin, Sphingomyelin), Glycolipide, Aminolipide, Sulfolipide usw.
- 3. Abgeleitete Lipide. Diese entstehen durch Verseifung aus den obengenannten Substanzen. Hierher gehören Fettsäuren, Sterine, höhere Alkohole usw.

Anscheinend setzt sich der Name "Lipide" aber weder in der englischen noch in der deutschen Literatur durch, und die Uneinigkeit in der Anwendung des Begriffes "Lipoid" besteht weiterhin. Der Meinung, daß die allgemeine Bezeichnung "Lipoid" über die Zugehörigkeit eines Stoffes viel zu wenig auszusagen vermag, schließt sich auch Lison (1953) in seinem Buch "Histochimie et Cytochimie animales" an. Im Kapitel "Lipide" bringt er nach Fixierungsangaben zunächst einen Überblick über die Allgemeinreaktionen auf Lipide und führt dann eine Reihe von Spezialreaktionen an, die es ermöglichen, eine genauere Bestimmung der gefundenen Lipide durchzuführen und ihre Zuordnung zu einer bestimmten Gruppe gestatten.

Das gebräuchlichste Fixierungsmittel für Lipoide ist 10- oder 20prozentiges Formol. Diese Fixierungstechnik ist aber weit davon entfernt indifferent zu sein, da sie zu mehr oder weniger weitgehenden Veränderungen führen kann. Untersuchungen über die Löslichkeit der Lipide in Formolfixierungsmitteln ergaben, daß sich Cholesterol und seine Ester sowie Galactolipide und Glyceride niemals in Formol lösen, daß hingegen ein großer Teil der Phospholipide in das flüssige Fixierungsmittel übergeht. So gelang es mir nie, die Inhaltskörper in den Stengel-Idioblasten von Scrophularia nodosa in Formol zu fixieren. Nach 30—40 Minuten war nichts mehr von ihnen zu sehen.

In der biologischen Chemie sind die Lipide durch ihre Löslichkeit in Fettlösungsmitteln, wie Alkohol, Äther, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Schwefelkohlenstoff usw., und ihre Unlöslichkeit in Wasser gekennzeichnet. Nach Lison kann aber diese Tatsache nicht ohne weiteres in die Histochemie transferiert werden, die Löslichkeitsverhältnisse haben nach seiner Meinung für den Histologen nicht die Wichtigkeit, die sie für den Biochemiker haben. Schon Molisch (1921) weist in seiner Mikrochemie auf die Schwierigkeit mikrochemischer Untersuchungen in der Zelle hin. Die Zelle ist ein Organismus, in dem auf kleinstem Raum 100 und mehr Stoffe verteilt sind, die wir zum Teil noch gar nicht kennen. Die Wahrscheinlichkeit, daß der Eintritt einer Reaktion durch einen oder den anderen Körper gehemmt, verhindert oder verschleiert wird, ist daher überaus groß.

Auch mit Hilfe verschiedener in Lipoiden löslicher Farbstoffe können diese im Gewebe nachgewiesen werden. Leider ließen sich weder Idioblasten noch Inhaltskörper im gebräuchlichsten Fettfarbstoff, dem Sudan III, anfärben, weil sich der Vakuoleninhalt im Alkohol sofort auflöst. Auch Härtel, Kenda und Webergelang die Sudanfärbung nur sehr selten. Dafür wiesen aber, wie bereits erwähnt, die Gelbrotfärbung mit Neutralrot im Verein mit der intensiven Gelbfluoreszenz und die starke diffuse Anfärbung mit

Rhodamin B, wobei gleichfalls Gelbfluoreszenz auftrat, auf Speicherung des Farbstoffes in Lipoiden.

Die Inhaltskörper in den Idioblasten leuchten zwischen gekreuzten Nikols nicht auf. Daraus läßt sich nach Lison aber kein Schluß ziehen, da Glyceride und Fettsäuren niemals doppelbrechend sind, Cholesterine und Lipine (zusammengesetzte Lipide) es wohl sein können, aber nicht immer sein müssen. Anders ist es, wenn Fettkörper zwischen gekreuzten Nikols aufleuchten und ein Polarisationskreuz zeigen. Dann kann es sich nur um ein Cholesterin oder ein Lipin handeln, da weder Glyceride noch Fettsäuren Sphärokristalle bilden können.

Auch bei der genaueren Identifizierung der einzelnen Lipide und ihrer Zuordnung zu einer der oben angeführten Gruppen kann verschiedenes Löslichkeitsvermögen Aufschluß geben. Phospholipine und Galactolipine sind unlöslich in Azeton. Von den Phospholipinen oder Phosphatiden ist wieder ein Teil in Alkohol löslich, ein Teil aber ist unlöslich. Den Gesamtanteil der in Alkohol löslichen Phosphatide stellen die Lecithine dar, während man unter Kephalinen den in Alkohol unlöslichen Gesamtanteil der Phosphatide versteht. Man hat nun versucht, diese Eigenschaften, die zur Isolierung der Lipide in der Makrochemie führen, auch der Histochemie dienlich zu machen. Es zeigte sich aber, daß die Phospholipine, besonders dann, wenn sie mit anderen Lipiden oder mit Cholesterol vermischt sind, nicht absolut unlöslich in Alkohol sind. Außerdem sind sie sehr leicht emulgierbar und gehen in Wasser und formolhaltigen Flüssigkeiten in kolloidale Lösung. Die Löslichkeit der Phosphatide ist weitestgehend abhängig von ihren Begleitsubstanzen, auch sind z. B. Eiweiß und dessen primäre Abbauprodukte in Gegenwart von Phosphatiden in Äther und Chloroform recht beträchtlich löslich (Winterstein 1932). Härtel, Kenda und Weber fanden, daß nach 48 Stunden Verweilen der Kelchblätter von Verbascum Blattaria in Alkohol, Äther, Chloroform und Benzol die Idioblasten leer waren, der Inhalt sich also in den Lösungsmitteln gelöst hatte, während sie in Azeton unverändert waren. Sie schlossen daher auf das Vorhandensein von Lecithin. Die Inhaltskörper der Idioblasten von Scrophularia nodosa lösen sich in allen organischen Lösungsmitteln, wobei nach Alkoholeinwirkung die bereits beschriebenen Kugeln feiner Kristallnadeln auftauchen. Selbst nach 48 Stunden Verweilen in Azeton, Chloroform, Benzol usw. waren die Idioblasten aber noch mit Rhodamin B und JKJ elektiv färbbar. Der Inhalt war also nicht zur Gänze herausgelöst. Nur Alkohol löst den gesamten Inhalt, und die Zellen erscheinen nachher leer. Auf diese

eigenartigen Löslichkeitseigenschaften im Verein mit anderen Eigentümlichkeiten des Idioblasteninhaltes wird später noch eingegangen werden.

Ein gutes Differentialfärbemittel stellt der Farbstoff Nilblau dar. Eine wäßrige Lösung von Nilblau soll nach Smith (1908) das blaue, stark wasserlösliche Salz, die rote, wenig lösliche Base und ein ungefärbtes Säureradikal enthalten. Demnach sollten sich neutrale Lipide rosa färben, während sich beim Vorhandensein von Fettsäuren die freie Base mit dem Säureradikal verbindet und Seifen mit blauer Farbe entstehen läßt. Diese Theorie ist aber unexakt.

Das käufliche Nilblau, das ein Oxazin darstellt, enthält stets als Verunreinigung das Oxazon Nilrot. Dieses ist eine sehr schwache Base, deren Salze in Wasser gänzlich hydrolysiert sind. In einer Nilblaulösung existiert das Nilrot gänzlich als freie Base. Es färbt alle Fettkörper und stellt einen General-Lipidfarbstoff dar. Das reine Nilblau färbt niemals rot, es färbt aber gewisse Fettkörper blau, und diese Blaufärbung, die viel kräftiger ist als die Rotfärbung, vermag diese zu überdecken. Mit Nilblau färben sich Fettkörper in festem Zustand nicht (z. B. Palmitin- und Stearinsäure, Tripalmitin, Tristearin und Cholesterol). Die neutralen flüssigen Fettkörper färben sich rosa, während sich die flüssigen sauren Fettkörper blau färben. Es sind dies die Fettsäuren, die Lipine und die Chromolipoide. Über die Färbbarkeit der Lecithine mit Nilblau sind die Meinungen geteilt. Spek (1942) führt die Färbung mit Nilblausulfat B als Erkennungsmittel für Phosphatide an. Diese färben sich leicht und stark blau, und zwar grünlichblau, an, wobei rote Fluoreszenz auftritt, die in Lecithin besonders stark ist. Auch Eiweißkörper färben sich nach Spek blau, doch zeigen sie einen Stich ins Violett. Die starke elektive Grünblaufärbung der Idioblasten von Scrophularia nodosa im Verein mit der intensiven roten Fluoreszenz läßt auf das Vorhandensein von Phospholipinen, eventuell Lecithinen, in den Idioblastenvakuolen schließen. Damit würde auch die blaue Eigenfluoreszenz des Vakuoleninhaltes in Einklang stehen, da Lecithine blau fluoreszieren. Auch Gentianaviolett, ein Farbstoff, der deutlich lipoidlöslich ist, wird von den Idioblasten gespeichert. Nach Romieu (1927) stellt auch die Braunfärbung mit Jodjodkali einen Nachweis für Lecithine dar ("réaction iodophile"). Sowohl reine als auch mit anderen Lipiden vermischte Lecithine geben die Reaktion. Idioblasten und Inhaltskörper von Scrophularia nodosa färben sich mit Jodjodkali, verdünnter Jodtinktur und Chlorzinkjod dottergelb bis rotbraun (kastanienbraun), je nach Konzentration der in der Vakuole vorhandenen Stoffe, wobei aber die Inhaltskörper stets etwas stärker tingiert erscheinen als die Vakuolen.

An den Schluß des Kapitels Lipide stellt Lison noch einen Abschnitt über Lipoproteine. Es sind dies Komplexe von Lipiden und Proteinen, deren Eigenschaften, wie Löslichkeit, Farbe usw., verschieden sind von der Summe der Eigenschaften ihrer Einzelkomponenten. Bei den meisten Lipoproteiden zeichnet sich die Bindung zwischen Proteid und Lipid durch große Stabilität aus. Eine ihrer bemerkenswertesten Eigenschaften ist die Tatsache, daß sie sich energisch einer Extraktion durch Äther oder andere Fettlösungsmittel widersetzten, daß aber andererseits eine Behandlung mit Alkohol, der an sich ein schlechtes Fettlösungsmittel darstellt, den Komplex in seine Bestandteile zu scheiden vermag und extrahierbare Lipide ergibt. Es gibt bis heute noch keine charakteristische Reaktion auf Lipoproteide. Lison findet es aber bedauerlich, daß das Studium dieser Stoffe noch nicht weiter fortgeschritten ist, da es wesentlich größeres Interesse verdienen würde als das Studium der reinen Lipide. So hat z. B. die Analyse der Mikrosomen und Mitochondrien ergeben, daß sie hauptsächlich aus Phospholipiden, die an Proteine oder Nukleoproteine in Form von Lipoproteinen gebunden sind, bestehen (Guilliermond 1932, Lepeschkin 1938).

Die Annahme, daß auch in den Idioblasten von Scrophularia zumindest ein Teil der Lipoide in Form von Lipoproteiden vorliegt, gäbe vielleicht eine Erklärung für die Tatsache, daß sich allein im Alkohol der gesamte Vakuoleninhalt herauslöst, während in allen anderen Fettlösungsmitteln noch nach 48 Stunden Stoffe vorhanden sind, die sich mit Rhodamin B weinrot färben und goldgelb fluoreszieren. Auch die Jodfärbung gelingt noch. Ebenso könnte damit vielleicht auch das Anfärben der Vakuolen mit sauren, im physiologischen Bereich nicht lipoidlöslichen Farbstoffen, wie z. B. Trypanblau, verständlich gemacht werden.

Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß in den Epidermis-Subepidermis- und Parenchymzellen in den verschiedensten Stoffen Entmischungströpfchen und -kugeln auftreten, während dies in den Idioblasten nie der Fall war. Es wäre nun möglich, daß die Idioblasten diese Stoffe, die in den anderen Zellen ausfallen, gar nicht besitzen, oder aber, daß diese Stoffe in den Vakuolen der Idioblasten in einer stabileren Bindung vorhanden sind und nicht so leicht entmischt werden können. Meist färben sich nämlich die Entmischungstropfen im gleichen Farbton wie die Vakuolen der Idioblasten, während der übrige Zellsaft ungefärbt oder in einem anderen Farbton gefärbt erscheint. Entmischungstropfen entstehen in Jodjodkali, Neutralrot LW, Rhodamin B, Nilblausulfat, Janusgrün B, 2,6 Dichlorphenolindophenol, Methylenblau, Akridinorange, A. P. Sudan, Chinin, Osmiumsäure, $K_2\mathrm{Cr}_2\mathrm{O}_7$ und p-Dimethylaminobenzaldehyd, wobei oft Unterschiede zwischen Epidermis und Subepidermis bestehen (Histosystasie!).

Nach all dem oben Angeführten scheint es sich bei der Grundmasse des Vakuoleninhaltes der Idioblasten um Phospholipide zu handeln, von denen ein Teil anscheinend an Proteine gebunden ist und als Lipoproteide vorliegt. Bei den Plasmal-Idioblasten von Verbascum kommt noch das Acetalphosphatid Plasmal hinzu, bei den Stengel-Idioblasten von Scrophularia nodosa ist es ein Stoff, der zur Ausfällung der eigenartig geformten Inhaltskörper führt. Er läßt sich mit Alkohol in Form von Kristallsphäroiden ausfällen, während sich der übrige Vakuoleninhalt löst. Die Kristalle ähneln in ihrem Verhalten und Aussehen denen von Ca-Phosphat, die Körper stellen wahrscheinlich eine Ca-Phospho-Verbindung dar.

Lipoide, vor allem Phosphatide im Zellsaft, wurden schon oft, vor allem von französischen Forschern, angegeben (Buvat 1936, Reilhes 1936, Guilliermond 1937). Daß Lipoide unter anderem verantwortlich für "volle" Zellsäfte sind, hat bereits Höfler (1948) vermutet. Die vollen Zellsäfte der Außenepidermis von Allium cepa sind im Gegensatz zu den leeren der Innenepidermis sehr lipoidreich (Gicklhorn 1932). Drawert (1940/41) vermutet in den speichernden Lipoiden freie Fettsäuren, doch ist ihre Natur noch nicht geklärt.

Das Akridinorange geht mit den lipoiden Zellsaftstoffen eine Verbindung ein, die in ihren Fluoreszenzeigenschaften (leuchtend gelbgrün) denen der Farbbase ähnlich ist. Bemerkenswert ist, daß sich die Idioblasten, die sich mit Akridinorange zu leuchtend gelbgrüner Fluoreszenz färben, mit Neutralrot gelbrot tingieren und gelb fluoreszieren, während die ebenfalls vollen Epidermiszellen in Neutralrot violettrot gefärbt sind und dumpf rot fluoreszieren. Allerdings entspricht auch hier die gelbrote Farbe und die Gelbfluoreszenz den Eigenschaften der Farbbasenmoleküle, wie dies ja für die Grünfluoreszenz mit Akridinorange zutrifft. Der volle Charakter der Epidermiszellen beruht eben nicht allein auf dem Vorhandensein von Lipoiden, hier müssen noch andere Stoffe dazukommen, die die violettrote Färbung und die rote Fluoreszenz verursachen. Es können dies unter anderem, wie Härtel (1951) gezeigt hat, Gerbstoffe sein, die in den Epidermiszellen vorhanden sind.

D. Zusammenfassung.

In den oberirdischen Organen verschiedener Scrophulariaceen liegen unter der Epidermis mehr oder weniger strahlend blau fluoreszierende Idioblasten. Sie sind meist unter einer kleinen Deckzelle, manchmal aber auch unter normal ausgebildeten Epidermiszellen, die bei den Scrophulariaceen häufig gekammert sind, gelegen und grenzen niemals direkt an die Oberfläche. Ihre Membranen sind stets zart und weisen keinerlei Verdickungen oder Tüpfel auf. Sie liegen meist einzeln im Gewebe, es können aber auch 2, seltener 3—4 unmittelbar nebeneinander liegen. Ihre Größe schwankt in weiten Grenzen. Bei der anatomischen Durchmusterung zahlreicher Scrophulariaceen fanden sich die Idioblasten nur bei Scrophularia, Celsia und Verbascum.

In den Idioblasten der Stengel und Blattstiele von Scronhularia nodosa liegen meist eigenartig geformte Inhaltskörper, die ebenfalls blau fluoreszieren und bisher sonst nirgends gefunden wurden. Ihre Gestalt wäre am ehesten mit Röhren von Vermetus oder mit Wurmtraganth vergleichbar. Sie stellen farblose Gebilde dar, die meist aus mehreren Strängen zusammengefügt sind, wobei die einzelnen Stränge verschieden stark sein können. In Einzelfällen besteht der Körper aus einem Knäuel dünner Fäden oder er sieht körnig wie ein "geformter Niederschlag" aus. Die Körper sind ziemlich widerstandsfähig gegen mechanische Einflüsse und zwingen bei Plasmolyse den Protoplasten ihre Form auf. Zwischen Zellgröße und Größe der Inhaltskörper bestehen keinerlei Beziehungen, auch das Verhältnis von Idioblasten, die Inhaltskörper besitzen, zu solchen ohne Inhaltskörper, wechselt. Nicht alle Stengelpartien sind gleich reich an Idioblasten, besonders viele gibt es in der Nähe der Nodien, wo sie allerdings sehr klein sind.

Die Stengel-Idioblasten von *Scrophularia alata* zeigen stets Vakuolenkontraktion, wobei nur die Vakuole stark blau fluoresziert, die Plasmazwickel aber im UV-Licht dunkel erscheinen.

Bei Scrophularia vernalis fallen im Plasma der Stengel-Idioblasten neben zahlreichen kleinen Mikrosomen größere Tröpfchen auf, die sich in keiner anderen Zelle des Schnittes finden.

Die Idioblasten im Stengel der drei Scrophularia-Species nodosa, alata und vernalis sind so spezifisch in ihrem Aussehen, daß es mit ihrer Hilfe gelingt, mikroskopisch die Zugehörigkeit eines Schnittes zu einer der drei Spezies zu bestimmen. Die Idioblasten in den Blättern ähneln sich hingegen sehr.

Die Idioblasten von Celsia sind denen von Scrophularia nodosa am ähnlichsten, doch entbehren sie jeglicher Inhaltskörper. Ihr Inhalt zeigt oft feine Sprünge und Risse und erinnert im Aussehen an Craquelée-Porzellan. Die Stengel-Idioblasten von Verbascum stellen besonders langgestreckte Zellen dar, während auch hier die Idioblasten in den Blättern denen von Scrophularia nodosa gleichen. Außerdem gibt es auch in den Kelch-, Blütentrag- und Blütenblättern zahlreiche Idioblasten.

An aus Samen gezogenen Scrophularia nodosa-Pflänzchen wurde die Entwicklung der Idioblasten und ihrer Inhaltskörper studiert. Schon im Hypokotyl der Keimpflänzchen finden sich winzig kleine, matt graublau fluoreszierende Idioblasten. Im Laufe der Entwicklung verstärkt sich die Fluoreszenz, und nach einiger Zeit (die Versuchspflänzchen hatten zu diesem Zeitpunkt 6 Blattpaare ausgebildet) treten auch die ersten Inhaltskörper in den Idioblasten auf. Eigenartig war, daß die aus dem Rhizom der aus Samen gezogenen Pflänzchen erwachsenen Tochterpflanzen die Inhaltskörper bereits zu einem früheren Zeitpunkt hatten als ihre Mutterpflanzen.

Bei vielen Scrophulariaceen kommen reichlich Hesperidin-Sphärite vor. Bei *Scrophularia* handelt es sich wohl um Diosmin, da sich die Sphärite auch nach längerem Einwirken von NH₃ nicht auflösen. Auch verschiedene *Linaria*-Spezies zeichnen sich durch reichliches Auftreten von Hesperidin-Sphäriten aus. Diese Sphärite sind in NH₂ leicht löslich.

Die in älteren Stengelepidermis- und Subepidermiszellen vorkommenden Tropfen dürften mit den von Lidforss (1898) für Scrophularia beschriebenen Inhaltskörpern identisch sein. Sie kommen niemals gleichzeitig mit den Hesperidin-Sphäriten vor, die beiden scheinen sich sogar auszuschließen. In den Idioblasten wurden beide niemals gesehen. Nach NH₃-Einwirkung entstehen in den Tropfen von innen her Sphärite. In den Epidermis- und Subepidermiszellen treten außerdem häufig Entmischungstropfen auf, die in den Idioblasten niemals entstanden.

An den Stengel-Idioblasten von Scrophularia nodosa und vergleichend damit auch an denen von Scrophularia alata wurden mikrochemische Untersuchungen und Vitalfärbungen durchgeführt. Die Inhaltskörper von Scrophularia nodosa lösen sich in organischen Lösungsmitteln, organischen Säuren, Mineralsäuren und Laugen auf und sind mit Lipoidfarbstoffen färbbar. Nach Alkoholzusatz lösen sich die Körper sofort, bald darauf schießen in den Idioblasten olivbraune Kristallnadelkugeln an, die zwischen gekreuzten Nikols das Auslöschungskreuz zeigen. Sie sind in Azeton unlöslich, in Wasser, Chloroform, konzentrierter Ameisensäure und konzentrierter HCl lösen sie sich sofort, in Essigsäure und NH₃

geht die Auflösung langsamer vor sich. Die Kristalle gleichen in ihrem Verhalten Ca-Phospho-Verbindungen und dürften, da sie nur bei *Scrophularia nodosa* und hier wieder nur in Idioblasten die Inhaltskörper besitzen, entstehen, einen der Stoffe darstellen, die zum Ausfallen der Körper in den Idioblasten führen. Auch steht die Menge der entstehenden Kristalle in direktem Verhältnis zur Größe der Inhaltskörper.

Die Idioblasten selbst färben sich mit verschiedenen Lipoidfarbstoffen, wie z. B. Rhodamin B, Chrysoidin, Bismarckbraun, Janusgrün, Nilblausulfat und anderen, sowie mit Jodjodkali und Chlorzinkjod, aber auch mit Methylenblau und sogar mit dem sauren Farbstoff Trypanblau, der im physiologischen Bereich nicht lipoidlöslich ist, elektiv an. Auch an jahrzehntealten Herbarexemplaren ist der Idioblasteninhalt noch färbbar, und es entstehen nach Alkoholbehandlung aus den Inhaltskörpern Kristallnadelkugeln. Der Idioblasteninhalt löst sich in organischen Lösungsmitteln nicht vollständig, die Zellen sind z. B. nach 48stündiger Azetonbehandlung noch elektiv färbbar. Nach 48stündigem Verweilen in Benzol oder Chloroform sind die Idioblasten ebenfalls noch färbbar, in Alkohol entstehen sogar noch die Kristallnadelbüschel. Alkohol löst allerdings den Inhalt der Idioblasten vollständig. Nach Alkoholbehandlung sind sie nicht mehr färbbar. Der Vakuoleninhalt der Idioblasten dürfte den Untersuchungen zufolge ein Gemisch von Phospholipoiden, die, zu einem Teil an Proteine gebunden, als Lipoproteide vorliegen, darstellen. Die Idioblasten vermögen 2.6-Dichlorphenolindophenol mit einem rH von 20 bis 22,5 in kurzer Zeit gänzlich zu reduzieren, in den mit Methylenblau (rH 13,5—15,5) gefärbten Vakuolen wird der Farbstoff nicht vollständig reduziert, eine ganz schwache, eben noch wahrnehmbare Blaufärbung bleibt in den Vakuolen zurück. In beiden Fällen kommt nach Zugabe von H₂O₂ die Färbung zwar wieder, doch treten dabei rote Farbtöne auf.

Ob diese Anhäufung von Phospholipiden und Phospho-Lipoproteiden, also Stoffen, denen für den Stoffwechsel und Stofftransport eine bedeutende Rolle zugeschrieben wird, in eigenen Idioblasten eine physiologische Bedeutung hat, ist fraglich. Die Reduktion von 2,6-Dichlorphenolindophenol und Methylenblau läßt wohl auf gewisse, allerdings nur träge verlaufende Stoffwechselvorgänge innerhalb der Idioblasten schließen, doch ist noch völlig ungeklärt, ob und wieweit diese im Gesamthaushalt der Pflanze eine Rolle spielen. Möglicherweise handelt es sich bei diesen Idioblasten im Grundgewebe, ähnlich wie bei den bekannten Myrosinzellen der Cruciferen, um Orte der Enzymproduktion.

Literaturverzeichnis.

- Bancher, E., 1951: Mikrurgische Studien an Delphinium-Anthocyanophoren. Protoplasma 40, 194.
- Biedermann, W., 1920: Der Lipoidgehalt des Plasmas bei Monotropa. Flora 113.
- Bloor, 1925: Chem. Reviews 2, 243 (zitiert nach Winterstein).
- Buvat, 1936: Lipides vacuolaires dans les meristèmes de certaines racines. Rev. Cytol. 2.
- Czapek, F., 1919: Zum Nachweis von Lipoiden in Pflanzenzellen. Ber. d. d. Bot. Ges. 37, 207.
- Döring, H., 1935: Versuche über die Aufnahme fluoreszierender Stoffe in lebende Pflanzenzellen. Ber. d. d. Bot. Ges. 53, 415.
- Drawert, H., 1939: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. I. Versuche mit Rhodaminen. Planta 29, 376.
- 1940: Desgl. II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Flora 34, 159.
- 1941: Desgl. III. Die Aufnahme saurer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Flora 35, 21.
- 1952 a: Die Eigenfluoreszenz der Schuppenblattepidermen von Allium cepa L. und ihre Beeinflussung. Zeitschr. f. Botanik, 40, 407.
- 1952 b: Vitale Fluorochromierung der Mikrosomen mit Nilblausulfat. Ber. d. d. Bot. Ges. 65, 263.
- 1953: Vitale Fluorochromierung der Mikrosomen mit Janusgrün B, Nilblausulfat und Berberinsulfat, Ber. d. d. Bot. Ges. 66, 135.
- Gicklhorn, J., 1929: Beobachtungen über die vitale Farbstoffspeicherung. Kolloidbeih. 28.
- 1932: Intrazelluläre Myelinfiguren und ähnliche Bildungen bei der reversiblen Entmischung des Protoplasmas. Protoplasma 15, 90.
- Gicklhorn, J. und Weber, F., 1926: Über Vakuolenkontraktion und Plasmolyseform. Protoplasma 1, 427.
- Graumann, W., 1953: Zur Standardisierung des Schiffschen Reagens. Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrokopie und f. Mikroskop. Technik 61, 225.
- Guilliermond, A., 1932: La structure de la cellule végétale: les inclusions du cytoplasm et en particulier les chondriosomes et les plastes. Protoplasma 16, 291.
- 1937: Sur la présence de lipides (phospholipides et stérides) dans les vacuoles de certaines cellules végétales. Protoplasma 27, 290.
- Guilliermond, A.. Mangenot, G. und Plantefol, L., 1933: Traité de cytologie végétale. Paris.
- Härtel, O., 1951: Gerbstoffe als Ursache "voller" Zellsäfte. Protoplasma 40, 338.
- 1952: Vitalfärbestudien an Verbascum Blattaria. Ztschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie und f. mikroskop. Technik 61, 9.
- Härtel, O., Kenda, G. und Weber, F., 1950: Plasmal-Idioblasten im Mesophyll von Verbascum Blattaria. Protoplasma 39, 629.
- Haitinger, M., 1937: Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie. Wien-Leipzig.
- -- 1938: Fluoreszenzmikroskopie. Ihre Anwendung in der Histologie und Chemie. Leipzig.
- Henner, J., 1934: Untersuchungen über Spontankontraktion der Vakuolen. Protoplasma 21, 81.

Höfler, K., 1939: Kappenplasmolyse und Ionenantagonismus. Protoplasma 33, 545.

- 1946: Sur la coloration vitale des vacuoles par l'orange d'acridine et le

rouge neutre. Compt. rend. Ac. Sc. Paris, 223, Nr. 7, 335.

- 1947: Was lehrt die Fluoreszenzmikroskopie von der Plasmapermeabilität und Stoffspeicherung. Mikroskopie 2, 13. - 1948: Einige Nekrosen bei Färbung mit Akridinorange. Sitzungsber

Österr. Akad. d. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 156, 585.

- 1949: Fluorochromierungsstudien an Pflanzenzellen. Mikroskopie I

Sonderband, 46. — 1954: Zur Vital- und Fluoreszenzfärbung. Ber. d. d. Bot. Ges. 66, 453.

Höfler, K., Toth, A. und Luhan, M., 1949: Beruht die Fluorochromfärbung von Zellkernen auf Elektroadsorption an der Eiweißphase? Protoplasma 39, 62,

Hofmeister, L., 1948: Vitalfärbestudien mit Chrysoidin. Sitzungsber. Österr. Akad. d. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 157, 55.

Kasy, R., 1952: Untersuchungen über Verschiedenheiten der Gewebeschichten krautiger Blütenpflanzen, in Beziehung zu entwicklungsgeschichtlichen Befunden Hans Winklers an Pfropfbastarden. Sitzungsber. Österr. Akad. d. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 160, 509.

Kinzel, H., 1954: pH-Werte alkalischer Phosphatpufferlösungen. Proto-

plasma 43, 441,

Koch, 1895: Über Scrophularia nodosa. Archiv d. Pharmazie 233, 77.

Kropfitsch, M., 1951: Apfelgaswirkung auf Stomatazahl. Protoplasma 40, 256,

Küster, E., 1926: Beitrag zur Kenntnis der Plasmolyse. Protoplasma 1, 73. - 1951: Die Zelle, 2. Auflage, Leipzig.

Leathes, J. B. und Raper, H. S., 1925: Lecithin and allied substances. Monogr. on Biochem., Oxford.

Lepeschkin, W. W., 1938: Kolloidchemie des Protoplasmas. 2. Auflage, Leipzig und Dresden.

Lidforss, B., 1898: Über eigenartige Inhaltskörper bei Potamogeton praelongus Wulf. Bot. Centralbl. 74, 305.

Linser, H., 1930: Fluoreszenzanalytische Untersuchungen an Pflanzen. Diss. Wien (vgl. Klein, G. und Linser, H., Österr. Bot. Zeitschr. 79,

Lison, L., 1933: Etude sur l'histochimie des corps gras. Bull. d'histologie,

appl. 10.

- 1953: Histochimie et cytochimie animales. 2. Auflage. Paris.

Mirande, M., 1923: Sur des organites élaborateurs (stérinoplastes) de lépiderme des écailles de bulbes de certains Lis blancs. Compt. rend. Ac. Sc. Paris, 176, 327.

- 1923: Sur les stérinoplastes et la phytostérine des bulbes de Lis blanc.

Ass. Anatom. Lyon.

Molisch, H., 1917: Beitrag zur Mikrochemie Nr. 8. Über einen leicht kristallisierbaren, organischen Körper bei *Linaria*-Arten. Ber. d. d. Bot. Ges. **35**, 99.

— 1921: Mikrochemie der Pflanze. Zweite Auflage, Jena.

Molliard, 1934: zitiert nach Scharinger 1936, dort ohne Literatur-

Reilhes, R., 1933: Sur la nature chimique et la signification des stérinoplastes. Comt. rend. Soc. Biol. 113, 267.

— 1936: Stérides et phospholipides dans le système vacuolaire de la cellule végétale. Rev. de Cytol. et de Cytophys. végét. 11.

- Rippel, A., 1932: Kationen, Anionen und gelegentlich auffindbare Elemente, Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse 2, Bd./I. 16.
- Romieu, 1927: Une réaction histochimique nouvelle des lécithines. Compt. rend. Ac. Sc. Paris 184, 106.
- Scharinger, W., 1936: Cytologische Beobachtungen an Ranunculaceen-Blüten. Protoplasma 25, 404.
- Smith, L., 1908: J. Pathol. 13, 2.
- Spek, J., 1943: Eine optische Methode zum Nachweis von Lipoiden in der lebenden Zelle. Protoplasma 37, 49.
- Strugger, S., 1938: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora 132, 253.
- 1941: Zellphysiologische Studien mit Fluoreszenzindikatoren. Flora 135, 101.
- Toth, A., 1952: Neutralrotfärbung im Fluoreszenzlicht. Protoplasma 41, 109.
- Toth-Ziegler, A., 1953: Rot fluoreszierende Inhaltskörper bei Leguminosen. Sitzungsber. Österr. Akad. d. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 161, 819.
- Tschirch, A., 1917: Handbuch der Pharmakognosie. 2. Bd. Leipzig. Tunmann-Rosenthaler, 1931: Pflanzenmikrochemie. 2. Auflage. Berlin.
- Vogl, A. E. I., 1896: Scrophularia nodosa L., its sphaerocrystals and some allied bodies. The pharm. journ. London 4. ser. vol. II, 101.
- Weber, F., 1930: Vakuolenkontraktion vital gefärbter Elodea-Zellen. Protoplasma 9, 106.
- 1932: Plasmalemma oder Tonoplast. Protoplasma 15, 453.
- Weber, F. und Kenda, G., 1952: Cactaceen-Virus-Eiweißspindeln. Protoplasma 41, 111.
- Wehmer, 1929: Die Pflanzenstoffe.
- Wiesner, G., 1951: Untersuchungen über Vitalfärbung von Allium-Zellen mit basischen Hellfeldfarbstoffen. Protoplasma 40, 405.
- Winterstein, A. 1932: Lipoide. In Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse 2. Bd./I., 578.
- Wulff, H., 1934: Lebendfärbung mit Chrysoidin. Planta 22, 70.